

UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

Faculté des Sciences Appliquées

Département de Génie Civil

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE DU MÉTABOLISME BACTÉRIEN DANS  
L'ENLÈVEMENT BIOLOGIQUE DU PHOSPHORE DES EAUX USÉES

Mémoire de Doctorat ès Sciences Appliquées

Spécialité : Génie Civil

Lmahfoud ASMLAL

Sherbrooke (Québec), CANADA

Octobre 1996

## RÉSUMÉ

Cette recherche s'intéresse à l'étude du comportement de la biomasse bio-P dans un système d'enlèvement biologique du phosphore vis à vis du relargage du phosphore, vis à vis de l'influence de la température sur ce relargage, vis à vis du glycogène, et vis à vis de la présence de métaux lourds dans le système.

Pour le besoin de l'étude, l'enlèvement biologique du phosphore a été développé dans un réacteur biologique séquentiel au laboratoire. En utilisant des boues bio-P, acclimatées à l'EBP dans ce RBS, et à l'aide d'essais en batch sous des conditions anaérobies nous avons développé un modèle mathématique de relargage du phosphore qui est basé sur la capacité maximale de stockage de polyphosphates. En stimulant le relargage du phosphore avec une gamme de concentrations en AGV variant de 10.8 à 205.3 mg DCO/L, on a trouvé qu'une concentration autour de 165 mg DCO/L d'AGV est optimale pour le relargage du phosphore. L'influence de la température sur ce relargage avec une concentration optimale en AGV de 165 mg DCO/L, a été trouvée être importante avec une diminution de l'activité de relargage de presque de moitié à 10 °C par rapport à celle observée à 20 °C.

L'influence des métaux lourds chrome VI, chrome III, cuivre, et plomb sur l'enlèvement biologique du phosphore a été étudiée. L'activité des bactéries bio-P quant au relargage et à l'utilisation du phosphore est inhibée par la présence de ces métaux dans le système. Ainsi un classement selon l'importance de l'inhibition qu'ils causent, est trouvé suivre l'ordre de toxicité suivant : chrome VI > cuivre > chrome III > plomb. Des modèles d'inhibition causée à l'activité de relargage et d'utilisation du phosphore par les bactéries bio-P, par ces métaux, ont été développés dans cette étude.

Enfin le glycogène a été trouvé n'avoir qu'un rôle secondaire dans le métabolisme des bactéries bio-P. On a pu trouver que les bactéries accumulatrices du glycogène peuvent compétitionner dans le système d'EBP mais ce ne sont pas elles qui constituent la principale cause de la détérioration de l'efficacité de traitement du système.

## REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens à remercier très vivement M. Subba Narasiah, professeur au département de génie civil de l'université de Sherbrooke qui a bien voulu agir comme directeur de recherche de ma thèse. Il m'a fourni de précieux conseils et d'importants encouragements pour me guider à mener à terme cette recherche.

Je remercie aussi M. Serge Bérubé, technicien responsable du laboratoire de génie de l'environnement pour ses conseils pertinents et son assistance au cours de la réalisation des essais de laboratoire. Aussi, je remercie M. Roland Leduc professeur au département de génie civil pour les discussions et les conseils qu'il m'a réservé tout au début de cette étude. Je saisis aussi cette occasion pour remercier mes collègues du groupe de génie environnement pour le climat d'amitié qu'ils ont pu préserver durant notre cohabitation au laboratoire.

Évidemment, mon épouse Fatiha, se doit d'être remerciée pour son soutien moral et ses encouragements sans cesse tout au long de la réalisation de ce travail. Je remercie également mes deux fils Adnane et Ayoub pour leur patience.

Finalement, je remercie les responsables du programme de bourses canadien de la francophonie pour la bourse qu'ils m'ont accordée afin de préparer mon doctorat. Et je remercie également la direction de l'école Hassania des Travaux Publics, Casablanca, Maroc, pour m'avoir autorisé à me détacher de mes fonctions d'enseignement pendant quelques années afin de me permettre de poursuivre des études de doctorat.

# TABLE DES MATIÈRES

Résumé	
Remerciements	
Table des matières	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des symboles et abréviations	
	Page
1. Introduction.....	1
2. Revue de littérature.....	3
2.1 Problèmes causés aux écosystèmes par les rejets riches en Phosphore.....	3
2.1.1. Eutrophisation.....	3
2.1.2. Réutilisation des eaux usées.....	7
2.2. Sources, quantités et formes de phosphore dans les eaux usées.....	7
2.3. Procédés d'enlèvement du phosphore dans les eaux usées.....	9
2.4. Déphosphatation biologique des eaux usées.....	12
2.5. Caractéristiques des micro-organismes accumulant les polyphosphates.....	19
2.6. Modèles biochimiques de la déphosphatation biologique.....	22
2.6.1. Métabolisme bactérien des polyphosphates.....	23
2.6.2. Métabolisme des PHB, des PHV, et du glycogène.....	26
2.6.3. Mécanisme du transport du substrat par les bactéries bio-P.....	30
2.6.4. Modèle de Nicolls et al. (1979).....	31
2.6.5. Modèle de Rensink (1981).....	33
2.6.6. Modèle de Marais et al. (1983).....	34
2.6.7. Modèle de Comeau/Wentzel (1986).....	35
2.6.8. Modèle de Mino et al. (1987).....	37
2.6.9. Modèle de Mino adapté par Wentzel et al. (1991).....	40
2.6.10. Synthèse sur l'utilisation de ces modèles.....	40
2.6.11. Cinétiques de relargage et d'enlèvement du phosphore par les bactéries bio-P dans un système d'EBP.....	41
2.7. Facteurs influençant l'enlèvement biologique du phosphore dans les eaux usées.....	42
2.7.1. Configuration du procédé.....	43
2.7.2. Nature et composition du substrat.....	44
2.7.3. Présence de nitrates dans la zone anaérobie.....	49
2.7.4. Micro-nutriments.....	50
2.7.5. Âge des boues.....	51
2.7.6. Température.....	53
2.7.7. Métaux lourds.....	55
2.7.8. Autres facteurs affectant la performance de l'EBP.....	58



3. Objectifs de la recherche et approche utilisée .....	60
4. Matériels et méthodes.....	63
4.1. Montage expérimental.....	63
4.2. Boues activées d'ensemencement.....	66
4.3. Type d'eau usée synthétique (EUS).....	67
4.4. Procédure d'opération du réacteur biologique séquentiel (RBS).....	69
4.4.1. Séquence des opérations du réacteur.....	69
4.4.2. Développement de la déphosphatation biologique.....	69
4.4.3. Optimisation du temps nécessaire pour atteindre une stabilité de l'efficacité du système.....	72
4.4.4. Essais en batch pour l'étude des cinétiques de relargage du phosphore... ..	73
4.4.5. Influence des métaux lourds ( $\text{Cr}^{3+}$ , $\text{Cr}^{6+}$ , Cu et Pb) sur l'EBP.....	78
4.4.6. Étude du rôle du glycogène dans l'EBP.....	81
4.5. Méthodes analytiques.....	86
5. Analyse et exploitation des résultats.....	87
5.1. Développement de l'EBP dans un RBS.....	87
5.1.1. Efficacité d'enlèvement du carbone.....	87
5.1.2. Efficacité d'enlèvement de l'azote.....	90
5.1.3. Efficacité d'enlèvement du phosphore.....	93
5.2. Comportement dynamique des paramètres de contrôle dans le RBS.....	100
5.2.1. DCO, COT.....	100
5.2.2. Azote.....	102
5.2.3. Phosphore.....	104
5.2.4. Comportement des autres paramètres après la stabilité du système.....	109
5.3. Optimisation du temps nécessaire au développement de l'EBP dans le RBS.....	112
5.4. Cinétiques biologiques du relargage du phosphore sous des conditions anaérobies..	118
5.4.1. Ordre de la réaction du relargage.....	118
5.4.2. Développement du modèle du relargage du phosphore.....	121
5.4.3. Dénitrification.....	124
5.4.4. Estimation du contenu spécifique maximal en polyphosphates et de la constante de réaction de relargage en utilisant le modèle développé.....	126
5.4.5. Cinétiques de relargage du phosphore suivant la variation de la température.....	131
5.5. Influence des métaux lourds chrome III, chrome VI, cuivre, et plomb sur l'EBP..	137
5.5.1. Caractéristiques des boues activées bio-P avant l'inhibition par les métaux lourds .....	137
5.5.2. Influence de l'EUS sur la solubilité des cations métalliques étudiés.....	137
5.5.3. Influence des métaux lourds étudiés sur l'enlèvement du carbone dans le RBS.....	139

5.5.4. Influence des métaux lourds sur l'enlèvement de l'azote Kjeldhal dans le RBS.....	145
5.5.5. Influence des métaux lourds sur l'enlèvement du phosphore dans le RBS.....	146
5.5.6. Adsorption des métaux lourds sur les boues bio-P.....	153
5.6. Étude du rôle du glycogène dans l'EBP.....	158
5.6.1. Essais en batch en utilisant les boues acclimatées à l'EBP.....	159
5.6.2. Essais en batch en utilisant les boues acclimatées à une séquence anaérobie/aérobie sans effectuer l'EBP.....	163
5.6.3. Rôle du glycogène dans l'EBP.....	167
6. Conclusions et Recommandations.....	169
6.1. Conclusions.....	169
6.2. Recommandations.....	172
Références bibliographiques.....	173
Annexe 1 : Méthodes analytiques.....	187
Annexe 2 : Comportement du pH dans le RBS au cours des cycles d'inhibition par les métaux.....	194
Annexe 3 : Comportement du COT et de la DCO dans le RBS au cours des cycles d'inhibition par les métaux.....	196
Annexe 4 : Comportement du TKN dans le RBS au cours des cycles d'inhibition par les métaux.....	200
Annexe 5 : Comportement des orthophosphates dans le RBS au cours des cycles d'inhibition par les métaux.....	202
Annexe 6 : Comportement des métaux dans le RBS au cours des cycles d'inhibition par les métaux.....	204
Annexe 7 : Photos du système RBS.....	207
Annexe 8 : Concentrations en AGV et les équivalences en DCO.....	208

## LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau 2.1. Caractéristiques d'un lac oligotrophe et eutrophe.....	4
Tableau 2.2. Quantités de phosphore déchargées dans les écosystèmes.....	5
Tableau 2.3. Exemples de concentrations en phosphore à respecter dans les effluents.....	6
Tableau 2.4. Concentrations en phosphore dans les rejets domestiques.....	8
Tableau 2.5. Rapports molaires du phosphore relargué par rapport à l'acétate consommé par les bactéries bio-P.....	17
Tableau 2.6. Ratios des cations co-transportés avec les phosphates par les bactéries bio-P.....	18
Tableau 2.7. Taux de relargage du phosphore et de dégradation de la DCO dans les systèmes d'EBP.....	45
Tableau 4.1. Caractéristiques des boues activées de la station d'épuration de la ville de Magog, utilisées pour l'ensemencement du réacteur.....	66
Tableau 4.2. Composition de l'eau usée synthétique utilisée.....	67
Tableau 4.3. Les caractéristiques moyennes de l'EUS.....	68
Tableau 4.4. Opérations de traitement dans le RBS.....	69
Tableau 4.5. Caractéristiques moyennes de la liqueur mixte dans le RBS.....	71
Tableau 4.6. Composition de l'eau usées synthétique utilisée pour les essais de relargage.....	75
Tableau 4.7. Concentrations en AGV et en phosphore mesurées au début de chaque essai de relargage.....	76
Tableau 4.8. Conditions d'essais pour l'étude de l'influence de la température sur le relargage du phosphore.....	77
Tableau 4.9. Conditions de réalisation des essais de relargage pour la détermination de l'ordre de réaction du relargage des polyphosphates.....	78
Tableau 4.10. Produits chimiques utilisés pour étudier l'influence des métaux lourds sur l'EBP.....	80
Tableau 4.11. Métaux étudiés avec les gammes de concentrations théoriques considérées.....	81
Tableau 4.12. Concentrations en COT utilisées dans la première série d'essais en batch pour l'étude du comportement du glycogène dans l'EBP.....	83
Tableau 4.13. Caractéristiques initiales des boues bio-P utilisées dans la première série d'essais en batch pour l'étude du comportement du glycogène dans l'EBP.....	83
Tableau 4.14. Caractéristiques de l'affluent et l'effluent dans le deuxième système acclimaté à un substrat faible en phosphore.....	84
Tableau 4.15. Concentrations en COT utilisées dans la première série d'essais en batch pour l'étude du comportement du glycogène dans la biomasse.....	85
Tableau 4.16. Caractéristiques initiales des boues utilisées dans la première série d'essais en batch pour l'étude du rôle du glycogène dans l'EBP.....	85
Tableau 5.1. Valeurs maximales du contenu spécifique en phosphore déterminées dans des boues bio-P.....	99
Tableau 5.2. Ratios: quantité de phosphore relargué par quantité de phosphore utilisé.....	104
Tableau 5.3. Coefficients de régressions linéaires entre P relargué et P utilisé.....	108
Tableau 5.4. Efficacité d'enlèvement du carbone et de l'azote pour chaque inoculum de boues bio-P.....	114
Tableau 5.5. Constantes de réaction de dégradation de polyphosphates pour différentes concentrations en AGV considérées.....	121

Tableau 5.6.	L'état de la dénitrification lors des essais de relargage du phosphore.....	125
Tableau 5.7.	Les paramètres de relargage obtenus pour différentes concentrations en AGV....	128
Tableau 5.8.	Comparaison de $P_{smax}/X$ , $(P_s)_i/X$ , et $P_{tot}/X$ .....	129
Tableau 5.9.	Les paramètres de relargage obtenus pour différentes températures avec des concentrations optimales en AGV.....	133
Tableau 5.10.	Concentrations moyennes des métaux analysés dans les boues de Magog et dans les boues bio-P des réacteurs RBS.....	137
Tableau 5.11.	Solubilités des cations métalliques étudiés, dans l'EUS.....	138
Tableau 5.12.	Concentrations inhibitrices en métaux vis à vis de la DCO et du COT.....	140
Tableau 5.13.	Vitesses spécifiques maximales de dégradation du COT pour les essais d'inhibition réalisés.....	142
Tableau 5.14.	Constantes d'inhibition $r_C$ et $C_C$ pour les bactéries bio-P en phase anaérobie pour les métaux étudiés.....	144
Tableau 5.15.	Taux spécifiques maximums de relargage du phosphore sous des conditions anaérobies pour les essais d'inhibition par les métaux lourds.....	148
Tableau 5.16.	Constantes d'inhibition $n_{PR}$ et $C_{PR}$ pour le relargage du phosphore par la biomasse bio-P en phase anaérobie et pour les métaux étudiés.....	150
Tableau 5.17.	Constantes d'inhibition $n_{PU}$ et $C_{PU}$ pour l'utilisation du phosphore par la biomasse bio-P en phase aérobie et pour les métaux étudiés.....	153
Tableau 5.18.	Adsorption des métaux lourds sur les boues bio-P.....	155
Tableau 5.19.	Les paramètres de l'isotherme de Langmuir déterminés pour l'adsorption des métaux lourds sur les boues bio-P.....	157
Tableau 5.20.	Utilisation du substrat par les bactéries dans la première série d'essais en batch pour l'étude du comportement du glycogène.....	162
Tableau 5.21.	Rapports massiques par rapport au substrat utilisé dans la première série d'essais en batch réalisés pour l'étude du comportement du glycogène.....	163
Tableau 5.22.	Utilisation du substrat par la biomasse dans la deuxième série d'essais en batch pour l'étude du comportement du glycogène.....	165
Tableau 5.23.	Rapports massiques par rapport au substrat utilisé dans la deuxième série d'essais en batch réalisés pour l'étude du comportement du glycogène.....	167

## LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 2.1. Schéma général du processus d'enlèvement biologique du phosphore.....	14
Figure 2.2. Corrélation du phosphore relargué avec le phosphore utilisé pour plusieurs types d'acides gras volatils.....	16
Figure 2.3. Structure de quelques polyphosphates inorganiques.....	24
Figure 2.4. Synthèse et dégradation des PHB.....	28
Figure 2.5. Métabolisme anaérobie des AGV pour former les PHB.....	29
Figure 2.6. Cheminement biochimique du stockage des PHB.....	31
Figure 2.7. Cheminements biochimiques pour le stockage des PHB sous des conditions anaérobies.....	39
Figure 2.8. P utilisé versus P relargué.....	42
Figure 2.9. Influence de l'âge des boues sur l'accumulation du phosphore par les bactéries bio-P.....	52
Figure 2.10. Enlèvement biologique du phosphore à différents âges des boues.....	53
Figure 2.11. Effet de l'âge des boues et de la température sur le pourcentage de phosphore dans les boues.....	55
Figure 4.1. Montage expérimental.....	65
Figure 4.2. Réacteur à digestion anaérobie utilisé pour les essais de relargage.....	74
Figure 5.1.a. Évolution de la DCO à l'affluent et à l'effluent dans le RBS.....	88
Figure 5.1.b. Efficacité d'enlèvement de la DCO par le RBS.....	88
Figure 5.2.a. Évolution du COT à l'affluent et à l'effluent dans le RBS. ....	89
Figure 5.2.b. Efficacité d'enlèvement du COT par le RBS. ....	89
Figure 5.3.a. Évolution du TKN à l'affluent et à l'effluent dans le RBS.....	91
Figure 5.3.b. Efficacité d'enlèvement du TKN par le RBS. ....	91
Figure 5.4.a. Évolution de l'ammoniac à l'affluent et à l'effluent dans le RBS.....	92
Figure 5.4.b. Efficacité d'enlèvement de l'ammoniac par le RBS. ....	92
Figure 5.5. Évolution des nitrates à l'affluent et à l'effluent dans le RBS.....	93
Figure 5.6.a. Évolution des orthophosphates à l'affluent et à l'effluent dans le RBS.....	94
Figure 5.6.b. Efficacité d'enlèvement des orthophosphates par le RBS.....	94
Figure 5.7.a. Évolution du phosphore total à l'affluent et à l'effluent dans le RBS.....	95
Figure 5.7.b. Efficacité d'enlèvement du phosphore total par le RBS.....	95
Figure 5.8. Contenu spécifique en phosphore des boues bio-P et des boues de Magog.....	96
Figure 5.9. Comportement dynamique de la DCO pendant des cycles du RBS.....	101
Figure 5.10. Comportement dynamique du COT pendant des cycles du RBS.....	102
Figure 5.11. Comportement dynamique du TKN pendant des cycles du RBS.....	102
Figure 5.12. Comportement dynamique du nitrate pendant des cycles du RBS.....	103
Figure 5.13. Comportement dynamique du PO <sub>4</sub> pendant des cycles du RBS.....	105
Figure 5.14. Corrélation entre le phosphore spécifique relargué en phase anaérobie et le phosphore spécifique utilisé en phase aérobie dans le RBS.....	106
Figure 5.15. Corrélation entre phosphore relargué et phosphore utilisé par des biomasses bio-P.....	107
Figure 5.16. Comportement dynamique typique du carbone dans le réacteur au cours d'un cycle de traitement (jour 250).....	109

Figure 5.17.	Comportement dynamique typique de l'azote dans le réacteur au cours d'un cycle de traitement (jour 250).....	110
Figure 5.18.	Comportement dynamique typique du phosphore dans le réacteur au cours d'un cycle de traitement (jour 250).....	110
Figure 5.19.	Comportement dynamique typique du pH, ORP, O <sub>2</sub> dissous, et température dans le réacteur au cours d'un cycle de traitement (jour 250).....	111
Figure 5.20.	Efficacité d'EBP dans le deuxième système pour les inoculum de 2%, 6%, et 12%.....	113
Figure 5.21.	Contenu spécifique en phosphore des boues dans le deuxième système pour les inoculum de 2%, 6%, et 12%.....	113
Figure 5.22.	Comportement dynamique des orthophosphates durant des cycles de traitement avec un inoculum de 2% (50 mL de boues bio-P).....	115
Figure 5.23.	Comportement dynamique des orthophosphates durant des cycles de traitement avec un inoculum de 6% (150 mL de boues bio-P).....	115
Figure 5.24.	Comportement dynamique des orthophosphates durant des cycles de traitement avec un inoculum de 12% (300 mL de boues bio-P).....	116
Figure 5.25.	Corrélation entre le phosphore spécifique relargué et le phosphore spécifique utilisé dans le deuxième système d'EBP.....	116
Figure 5.26.	Variation des concentrations en polyphosphates dans la biomasse bio-P au cours du relargage pour différentes concentrations en AGV.....	119
Figure 5.27.	Ln(P <sub>i</sub> ) versus temps d'anaérobie pour différentes concentrations en AGV.....	120
Figure 5.28.	Allures du comportement des polyphosphates dans la biomasse et du comportement du phosphore relargué sous des conditions d'anaérobie.....	123
Figure 5.29.	Phosphore spécifique relargué depuis le début des conditions d'anaérobie stricte versus le temps, pour différentes concentrations en AGV.....	126
Figure 5.30.	Linéarisations des données de relargage en utilisant la méthode de Thomas.....	127
Figure 5.31.	Variation du P <sub>max</sub> /X, du (P <sub>s</sub> ) <sub>i</sub> /X, et du P <sub>tot</sub> /X suivant les concentrations initiales en AGV utilisées pour la stimulation de la biomasse bio-P.....	130
Figure 5.32.	Variation de la constante de relargage K en fonction des concentrations en AGV.....	131
Figure 5.33.	Variation typique du phosphore spécifique relargué pour la gamme de température de 5 °C à 25 °C.....	132
Figure 5.34.	Linéarisations typiques de données de relargage du phosphore à différentes températures.....	132
Figure 5.35.	Constante de relargage K versus la température de l'essai de relargage, pour la gamme de concentrations optimales en AGV.....	134
Figure 5.36.	Relation linéarisée d'Arrhenius pour les taux maximums de relargage du phosphore spécifique obtenus pour différentes températures.....	135
Figure 5.37.	r <sub>C</sub> /r <sub>C0</sub> versus M/X pour les métaux étudiés.....	143
Figure 5.38.	Ln(1-r <sub>C</sub> /r <sub>C0</sub> ) versus Ln(M/X) pour les métaux étudiés.....	144
Figure 5.39.	TRP/TRP <sub>0</sub> versus M/X <sub>0</sub> , pour les métaux étudiés.....	148
Figure 5.40.	Ln(1-(TRP/TRP <sub>0</sub> )) versus Ln(M/X <sub>0</sub> ), pour les métaux étudiés.....	149
Figure 5.41.	Variation de TSPU/TSPU <sub>0</sub> en fonction de M/X <sub>0</sub> .....	152
Figure 5.42.	Ln(1-(TSPU/TSPU <sub>0</sub> )) versus Ln(M/X <sub>0</sub> ).....	153
Figure 5.43.	Représentation de la linéarisation de l'isotherme de Langmuir pour les données des essais réalisés.....	156

Figure 5.44.	Évolution du contenu spécifique en phosphore des boues dans le deuxième système durant la période de sa mise en marche pour l'étude du comportement du glycogène.....	159
Figure 5.45.	Comportement typique des paramètres analysés lors de la première série d'essais en batch, quand la source de carbone pour la biomasse est sous forme de sucrose seul.....	160
Figure 5.46.	Comportement typique des paramètres analysés lors de la première série d'essais en batch, quand la source de carbone pour la biomasse est seulement sous forme d'acétate seul.....	160
Figure 5.47.	Comportement typique des paramètres analysés lors de la première série d'essais en batch, quand la source de carbone pour la biomasse est un mélange de sucrose et d'acétate.....	161
Figure 5.48.	Comportement typique des paramètres analysés lors de la deuxième série d'essais en batch, quand la source de carbone pour la biomasse est sous forme de sucrose seul.....	164
Figure 5.49.	Comportement typique des paramètres analysés lors de la deuxième série d'essais en batch, quand la source de carbone pour la biomasse est seulement sous forme d'acétate seul.....	164
Figure 5.50.	Comportement typique des paramètres analysés lors de la deuxième série d'essais en batch, quand la source de carbone pour la biomasse est un mélange de sucrose et d'acétate de sodium.....	165
Figure A2.1.	Évolution du pH dans le RBS avec inhibition par le chrome III.....	194
Figure A2.2.	Évolution du pH dans le RBS avec inhibition par le chrome VI.....	194
Figure A2.3.	Évolution du pH dans le RBS avec inhibition par le cuivre.....	195
Figure A2.4.	Évolution du pH dans le RBS avec inhibition par le plomb.....	195
Figure A3.1.	Évolution du COT dans le RBS avec inhibition par le chrome III.....	196
Figure A3.2.	Évolution de la DCO dans le RBS avec inhibition par le chrome III.....	196
Figure A3.3.	Évolution du COT dans le RBS avec inhibition par le chrome VI.....	197
Figure A3.4.	Évolution de la DCO dans le RBS avec inhibition par le chrome VI.....	197
Figure A3.5.	Évolution du COT dans le RBS avec inhibition par le cuivre.....	198
Figure A3.6.	Évolution de la DCO dans le RBS avec inhibition par le cuivre.....	198
Figure A3.7.	Évolution du COT dans le RBS avec inhibition par le plomb.....	199
Figure A3.8.	Évolution de la DCO dans le RBS avec inhibition par le plomb.....	199
Figure A4.1.	Évolution du TKN dans le RBS avec inhibition par le chrome III.....	200
Figure A4.2.	Évolution du TKN dans le RBS avec inhibition par le chrome VI.....	200
Figure A4.3.	Évolution du TKN dans le RBS avec inhibition par le cuivre.....	201
Figure A4.4.	Évolution du TKN dans le RBS avec inhibition par le plomb.....	201
Figure A5.1.	Évolution des orthophosphates dans le RBS avec inhibition par le chrome III.....	202
Figure A5.2.	Évolution des orthophosphates dans le RBS avec inhibition par le chrome VI.....	202
Figure A5.3.	Évolution des orthophosphates dans le RBS avec inhibition par le cuivre.....	203
Figure A5.4.	Évolution des orthophosphates dans le RBS avec inhibition par le plomb.....	203
Figure A6.1.	Évolution du chrome III dans le RBS pendant les cycles de traitement.....	204
Figure A6.2.	Évolution du chrome VI dans le RBS pendant les cycles de traitement.....	204
Figure A6.3.	Évolution du chrome VI dans le RBS pendant les cycles de traitement.....	205
Figure A6.4.	Évolution du cuivre dans le RBS pendant les cycles de traitement.....	205
Figure A6.5.	Évolution du plomb dans le RBS pendant les cycles de traitement.....	206

## LISTE DES SYMBOLES ET ABRÉVIATIONS

$\mu_m^*$ :	Taux spécifique de croissance à une concentration donnée du métal.
$\theta$ :	Coefficient de température.
$\mu_m$ :	Taux spécifique de croissance à une concentration zéro du métal.
$\Delta P_{ut}$ :	Quantité de phosphore utilisée pendant la période aérobie.
A :	Coefficient de Van't Hoff - Arrhénius.
A/O :	Procédé de biodéphosphatation «anaérobie/oxique».
ACS:	American Chemical Society.
ADN:	Nicotinamide adénine dinucléotide.
ADNH <sub>2</sub> :	Nicotinamide adénine dinucléotide bi-réduite.
ADP:	Adénosine diphosphate.
AGV:	Acides gras volatils.
AMP:	Adénosine monophosphate.
ATP:	Adénosine triphosphate.
b :	Coefficient, qui est lié à l'énergie d'adsorption du métal.
Bardenpho:	Barnard Denitrification Phosphorus removal process.
Bio-P:	Bactéries qui sont capables d'enlever le phosphore.
C :	Constante d'inhibition.
C <sub>C</sub> :	Constante d'inhibition de l'enlèvement du carbone.
C <sub>m</sub> :	Capacité maximale d'adsorption du métal sur la biomasse bio-P.
CoA-SH:	Groupe sulfhydryles et Co-enzyme A.
CoA:	Co-enzyme A.
COT:	Carbone organique total.
CPG :	Chromatographie en phase gazeuse.
C <sub>PR</sub> :	Constante d'inhibition du relargage du phosphore.
C <sub>PU</sub> :	Constante d'inhibition d'utilisation du phosphore.
DBO <sub>5</sub> :	Demande biochimique en oxygène après 5 jours.
DCO:	Demande chimique en oxygène.
dP <sub>rel</sub> :	Quantité de phosphore relarguée pendant la période anaérobie : dt.
E <sub>a</sub> :	Énergie d'activation de la biomasse bio-P.
EBP:	Enlèvement biologique du phosphore.
ED:	Cheminement d'Entner-Doudoroff.
EDTA:	Acide éthylènediamine tétracétique.
EM:	Cheminement d'Embden-Meyerhof
EUS:	Eau usée synthétique.
G+C:	Guanine + Cytosine.
Gl. :	Glucose.
Gly. :	Glycogène.
HB :	Hydroxybutyrates.
IVB:	Indice volumétrique des boues.
K :	Constante de réaction de dégradation des polyphosphates.
K <sub>i</sub> :	Constante d'inhibition.
L <sub>m</sub> :	Le contenu spécifique maximal en polyphosphates de la biomasse après la dénitrification.



$L_t$ :	La concentration spécifique en polyphosphates de la biomasse bio-P à l'instant $t$ depuis le début de la phase anaérobie stricte (après la période de dénitrification).
$M$ :	Concentration en métal.
$M_{eq}$ :	Concentration en métal résiduel dans le surnageant à la fin du cycle.
MES:	Matières totales en suspension dans la liqueur mixte.
$M_i$ :	Concentration en métal initiale au début du cycle, utilisée pour l'inhibition.
MVS:	Matières volatiles en suspension dans la liqueur mixte.
$n$ :	Constante (ordre de la réaction dans l'équation 5.2).
$n$ :	Constante d'inhibition (équation 5.21).
$NAD^+$ :	Nicotinamide adénine dinucléotide oxydée.
$NADH$ :	Nicotinamide adénine dinucléotide réduite.
$n_C$ :	Constante d'inhibition de l'enlèvement du carbone.
$n_{PR}$ :	Constante d'inhibition du relargage du phosphore.
$n_{PU}$ :	Constante d'inhibition d'utilisation du phosphore.
ORP:	Potentiel d'oxydoréduction.
$P$ :	La concentration en P total dans le surnageant de l'échantillon prélevé au bout de chaque intervalle de temps.
$P_0$ :	La concentration en P total dans le surnageant de l'échantillon prélevé au bout de la première heure d'anaérobie (après avoir complété la dénitrification).
$P_d$ :	La concentration en P total dans le surnageant de l'échantillon prélevé tout au début de l'essai en batch du relargage.
pH:	Potentiel hydrogène.
PHA:	Poly- $\beta$ -hydroxyalkanoates.
PHB:	Poly- $\beta$ -hydroxybutyrates.
PHV:	Poly- $\beta$ -hydroxyvalérates.
$P_i$ :	Phosphore inorganique.
po:	pouces
$PO_4$ :	Orthophosphates.
Poly-P:	Polyphosphates inorganiques.
$P_s$ :	Concentration de polyphosphates dans la cellule bactérienne.
$(P_s)_i$ :	Contenu en phosphore mesuré dans la biomasse au début de l'essai de relargage.
$P_{smax}/X$ :	Le contenu spécifique maximal en polyphosphates de la biomasse prélevée du réacteur RBS après la période aérobie.
$P_{smax}$ :	Contenu maximal en polyphosphates dans la biomasse.
$P_{srel}$ :	Phosphore spécifique relargué.
$P_{sut}$ :	Phosphore spécifique utilisé.
$P_{tot}$ :	Concentration maximale en phosphore relargué.
$R$ :	Constante des gaz parfaits.
$R^2$ :	Coefficient de détermination d'une régression linéaire.
RBS:	Réacteur biologique séquentiel.
$r_C$ :	La vitesse spécifique d'enlèvement du COT par la biomasse.
$R_C$ :	La vitesse de dégradation du COT par la biomasse.
$r_{Co}$ :	vitesse spécifique d'enlèvement du COT en absence de toute concentration en métal.
$T$ :	Température.
TCA:	Acide tricarboxylique.

THM:	Trihalométhanes.
TKN:	Azote kjeldhal total.
TPU :	Taux maximum d'utilisation du phosphore.
TRP :	Taux maximum de relargage du phosphore.
TRP <sub>0</sub> :	Taux spécifique du relargage du phosphore en absence du métal.
TSPU :	Taux spécifique maximum d'utilisation du phosphore en présence d'une concentration en métal.
TSPU <sub>0</sub> :	Taux spécifique maximum d'utilisation du phosphore en absence de concentration en métal.
TUO:	Taux d'utilisation d'oxygène.
U.V.:	Ultra -violet.
UCT:	Procédé Université Cap Town.
UCTM:	Procédé UCT modifié.
X:	Matières volatiles en suspension.
X <sub>0</sub> :	Concentration en biomasse bio-P mesurée au début du traitement.
Y <sub>t</sub> :	La concentration spécifique en phosphore relargué à l'instant t depuis le début de la phase anaérobie stricte.

## 1. INTRODUCTION

Durant le vingtième siècle, la combinaison de l'accroissement démographique et le développement des systèmes de collecte des eaux usées menace les ressources en eau naturelles disponibles. Le principal objectif du contrôle conventionnel de la pollution de ces ressources en eau est de minimiser la matière organique biodégradable et l'action pathogène des eaux usées brutes. Cependant, l'impact sur l'environnement des autres types de pollution a acquis une grande importance ces récentes années dans le souci des gestionnaires des ressources naturelles. L'accroissement de la conscience publique accordée à la qualité de l'environnement, et la forte demande en eau de surface de meilleure qualité, ont poussé les législateurs à imposer des normes de qualité des eaux usées rejetées dans les écosystèmes. Le contrôle de la quantité de phosphore dans les rejets est devenu une clé importante pour améliorer la qualité de ces écosystèmes, puisque le phosphore présent dans les écosystèmes à des concentrations élevées, affecte la qualité des ressources en eau douce et la pratique de la réutilisation des eaux usées. L'eutrophisation des eaux de surface est donc devenue un phénomène universel qui exige une solution urgente.

Depuis que les procédés de traitement primaire et secondaire des eaux usées ne réduisent pas les niveaux de phosphore à des concentrations désirées, des efforts ont été concentrés sur:

- a) La diminution des quantités de phosphates dans les détergents;
- b) Le développement de procédés de traitement tertiaire des eaux usées pour l'abattement du phosphore en utilisant des méthodes chimiques ou biologiques.

Cette recherche s'inscrit parmi les efforts qui ont pour objectif global de réduire le phosphore dans les eaux usées par des procédés biologiques. Elle s'intéresse plus spécifiquement à l'étude de cinétiques biologiques de l'enlèvement du phosphore, et aussi à l'effet d'inhibition par les métaux lourds ainsi que l'effet de la variation de la température sur le relargage du phosphore sous des conditions d'anaérobie. Le but ultime de ce travail est le développement de modèles simples décrivant ces cinétiques biologiques de la biomasse bio-déphosphatante et d'une façon

plus générale le processus de fonctionnement du procédé d'enlèvement biologique du phosphore à l'aide de réacteurs biologiques séquentiels .

Ainsi, nous présenterons, dans ce qui suit, tout d'abord une analyse critique des différents aspects de l'enlèvement biologique du phosphore des eaux usées, couverts dans la littérature (chapitre 2), pour dégager par la suite les axes de recherche qui nécessitent encore des efforts d'investigation (chapitre 3). Dans le chapitre 4, nous définirons les caractéristiques du matériel et des méthodes utilisés au laboratoire pour développer et contrôler l'enlèvement biologique du phosphore dans un réacteur biologique séquentiel, et aussi la méthodologie utilisée pour réaliser les objectifs de cette recherche. Au chapitre 5 nous exposerons et analyserons les résultats des essais réalisés. Ainsi, à l'aide des résultats des expériences, nous proposerons des modèles mathématiques concernant le relargage du phosphore en phase anaérobie et l'inhibition de l'enlèvement biologique du phosphore par les métaux lourds, et nous étudierons le rôle du glycogène dans un système d'enlèvement biologique du phosphore et ses cinétiques de comportement dans la biomasse sous des conditions anaérobies. Enfin, nous exposerons les conclusions de ce travail et les recommandations pour les études et recherches futures à entreprendre dans le domaine de l'enlèvement biologique du phosphore.

## 2. REVUE DE LITTÉRATURE

### 2.1. Problèmes causés aux écosystèmes par les rejets contenant le phosphore

#### 2.1.1. Eutrophisation

Sur une échelle globale, l'eutrophisation des eaux de surfaces est une pollution qui affecte toute la masse de l'écosystème. Les effets de l'eutrophisation sont bien décrits dans la littérature (OCDE, 1982, Henderson-Sellers et al., 1987; Mackenthum, 1973; Thomas 1973; Wetzel, 1975). Une comparaison des caractéristiques d'un écosystème eutrophe et oligotrophe est résumée dans le tableau 2.1.

Une décharge importante en nutriments dans un lac engendre immédiatement un accroissement phytoplanctonique et subséquemment une productivité animale qui peut détruire l'équilibre biologique de l'écosystème (Wetzel, 1975). Les algues planctoniques causent la turbidité et une écume à la surface de l'eau. D'autre part, les algues favorisent la formation de zones où se forment des macrophytes enracinées, impliquant aussi la diminution du volume occupé par l'eau dans le lac (Thomas, 1973; Cooke et al. 1986). En outre, plusieurs algues rejettent des métabolites organiques qui peuvent entraîner sérieusement des problèmes de saveur et d'odeur dans l'eau du lac; ou parfois une toxicité des eaux (OCDE, 1982). En plus, ces métabolites réagissent avec le chlore pour produire les trihalométhanes (THM) qui sont connus être cancérogènes (Cooke et al., 1986). La consommation d'oxygène dissous accrue dans le lac est due à la décomposition de la matière organique par des bactéries aérobies et à la respiration de la faune et la flore aquatique qui diminue éventuellement l'oxygène dissous disponible dans l'hypolimnium menaçant ainsi la vie des poissons (Henderson-Sellers et al., 1987). Les bactéries anaérobies croissent au fond du lac et entraînent des mauvaises odeurs par production du sulfure d'hydrogène  $H_2S$  (Winkler et al., 1978).

En résumé, l'eutrophisation « artificielle » de la masse d'eau implique plusieurs effets négatifs sur les usines de filtration des eaux, la pêche, la baignade, le canotage et sur les autres utilisations de l'eau du lac.

Tableau 2.1. Caractéristiques d'un lac oligotrophe et eutrophe (Henderson-Sellers et al., 1987)

Caractéristiques	Oligotrophe	Eutrophe
(1) Physico-chimiques		
Concentration en O <sub>2</sub> dissous dans l'hypolimnion	élevée	faible
Concentration en nutriments dans la colonne d'eau et les sédiments	faible	élevée
Profondeur de pénétration de la lumière	élevée	faible
(2) Biologiques		
Productivité primaire	faible	élevée
Production animale	faible	élevée
Nombre de plantes et d'espèces animales	élevée	faible
Phytoplancton biomasse variété profondeur de distribution migration diurne prolifération groupe	petite plusieurs espèces sur une grande prof. extensive rare algue verte (chlorophycées)	large quelques espèces sur une prof. limitée limitée fréquente algues bleu-vert (cyanophycées)

La méthode la plus efficace et la plus durable pour contrôler l'eutrophisation est de réduire la quantité de nutriments déchargés dans le lac (Ryding et al., 1989). Les tissus d'algues et macrophytes contiennent du phosphore (P), de l'azote (N) et du carbone (C) selon des ratios par poids de 1P: 7N: 40C (Wetzel, 1975). Dans plusieurs cas un seul de ces éléments nutritifs devient limitant pour la croissance de la biomasse algale, qui est usuellement le phosphore ou l'azote (Ryding et al., 1989; Henderson-Sellers et al., 1987). Une étude portée sur plus de 150 lacs dans l'Amérique du Nord et l'Europe relate que dans 70% des cas le phosphore est le

nutriment le plus limitant (OCDE, 1982). Également, pour les lacs présentant un rapport N/P faible, le choix de la réduction du phosphore est retenue comme le moyen de contrôle de l'eutrophisation. Ce choix se justifie du fait que le contrôle de la croissance algale par la limitation de l'azote est difficile, car l'azote peut être assimilé à partir de l'atmosphère par les algues bleu-vert qui le fixent (Ryding et al., 1989, OCDE, 1982; Cooke et al., 1986). Ainsi, pour plusieurs cas, l'eutrophisation est contrôlée par l'élimination ou l'abattement à des quantités raisonnables des concentrations du phosphore dans les rejets déchargés dans les eaux du lac.

Le phosphore qui cause le problème d'eutrophisation provient, majoritairement, des affluents d'eaux usées municipales et industrielles des stations d'épuration, et aussi de sources diffuses telles que le lessivage des engrais artificiels et le ruissellement urbain (Tableau 2.2).

Tableau 2.2. Quantités de phosphore déchargées dans les écosystèmes en Amérique du Nord.  
(Asano et al., 1982).

Provenance	Flux déchargé
Effluent secondaire sans procédé d'enlèvement du phosphore	0.7 - 1.3 kg / capita / an
Effluent secondaire avec procédé d'enlèvement du phosphore	0.2 kg / capita / an
Drainage des cultures irriguées	0.06 kg / ha drainé / an
Lessivage des engrais agricoles	0.16 - 0.73 kg / ha / an
Déposition atmosphérique dans les zones urbaines et industrielles	0.04 - 0.57 kg / ha / an
Déposition atmosphérique dans les zones rurales et agricoles	0.02 - 0.16 kg / ha / an

La stratégie efficace pour contrôler l'eutrophisation est donc de réduire le phosphore dans les rejets provenant des stations d'épuration des eaux usées (OCDE, 1982). Pluarg (1978) a montré que les coûts d'investissement et de maintenance nécessaires pour qu'une station d'épuration des

eaux usées effectue un enlèvement chimique de phosphore avec un effluent de concentration de 1 mg / L sont de 8 \$ / kg de phosphore enlevé (32 \$ / Kg de phosphore enlevé, si on actualise pour 1996 avec un taux d'actualisation de 8%), d'autre part la réduction de 25% de la charge en phosphore d'une source diffuse est de 64\$ / kg de phosphore enlevé (256 \$ / Kg de phosphore enlevé, pour une actualisation de 1996). Le contrôle du phosphore déchargé dans l'écosystème se fait par la limitation des concentrations que les effluents déchargés doivent présenter (tableau 2.3). L'amélioration des chaînes de fabrication de détergents permet aussi de limiter les concentrations en phosphore rejetées dans les écosystèmes. Par exemple, dans la région des grands lacs, plusieurs états américains ont interdit sur le marché la vente de détergents contenant plus de 0.5% de phosphore par poids; normalement, le contenu en phosphore de détergents est de 5 à 10% là où la vente n'est pas prohibée (Hartig et al., 1982).

Tableau 2.3. Exemple de concentrations en phosphore à respecter dans les effluents (mg / L)  
(The Soap & Detergent Association, 1989; Heidtke, 1986)

Pays	Concentration de phosphore à respecter (mg P/L)
USA	
Grands Lacs	1.0, si débit > 3800 m <sup>3</sup> /j
Floride	1.0, pour lac, baie, estuaire
Baie Chesapeake	2.0
PA (rivière Susquehanna inférieure)	0.2
VA (rivière Potomac inférieure)	0.2
Reno Sparles, NV	0.5
Lac Tahoe, CA	1.0
Suisse	1.0 ou 85% d'enlèvement de phosphore pour décharger dans un lac
Suède	1.0
Afrique du Sud	1.0



### 2.1.2. Réutilisation des eaux usées

En général, l'eau douce mise à la disposition des agglomérations est suffisante pour répondre aux besoins des populations (USWRC, 1978). Cependant, dans certaines agglomérations telles que le sud de la Californie, l'Arizona, le Nevada, le Colorado, le centre du Texas, la demande en eau excède les ressources en eau douce disponibles. Alors, dans les régions où les ressources en eau douces ne sont pas très abondantes, la récupération et la réutilisation des eaux usées est nécessairement importante pour répondre à la demande en eau. Le potentiel de la réutilisation des eaux usées est donné par Asano et al., (1982). Aussi, les eaux usées municipales peuvent être réutilisées avec des volumes d'importance décroissante selon les domaines suivants:

- Agriculture et arrosage des espaces verts;
- Procédés industriels et l'eau de refroidissement;
- Centres pour activités récréatives;
- Augmentation du débit d'un cours d'eau;
- La recharge des nappes souterraines.

À l'exception de la réutilisation de l'eau en agriculture, l'enlèvement du phosphore est nécessaire pour toutes les autres catégories de réutilisations des eaux usées. L'enlèvement du phosphore dans les eaux usées qui peuvent être réutilisées dans l'arrosage des espaces verts ou dans la recharge de nappes souterraines est requis pour prévenir l'eutrophisation des eaux de surface qui reçoivent ultimement ces eaux usées réutilisées. Dans les procédés industriels, les phosphates augmentent la formation de tartre. Le tartre cause un mauvais fonctionnement de tours de refroidissement et la détérioration des canalisations. Puisque l'enlèvement chimique de tartre est un procédé coûteux, une méthode efficace et moins coûteuse est l'abatement des concentrations autour de 1 à 1.5 mg P/L avant la réutilisation des eaux usées (Asano et al., 1982).

### 2.2. **Sources quantités et formes de phosphore dans les eaux usées**

Dans les eaux usées, le phosphore (P) se trouve sous forme particulaire ou dissoute. La fraction dissoute est le phosphore capable de passer à travers un filtre de 0.2  $\mu\text{m}$ . On peut le trouver sous

forme de phosphates condensés tels que: les métaphosphates ( $P_3O_9^{3-}$ ), les triphosphates ( $P_3O_{10}^{5-}$ ) et les pyrophosphates ( $P_2O_7^{4-}$ ), ou sous forme d'orthophosphates ( $PO_4^{3-}$ ) (Hooper, 1973). Les phosphates condensés sont communément présents dans les détergents synthétiques et ils sont formés par la condensation de deux molécules d'orthophosphates ou plus reliées ensemble par une chaîne P-O-P (Kulaev, 1979). Le phosphore particulaire est organique insoluble, et provient généralement de la matière organique et du protoplasme de cellules des micro-organismes.

Le phosphore, dans les eaux usées municipales, provient des déchets humains, des eaux domestiques, des déchets organiques et des détergents. La concentration en P dans les rejets domestiques varie largement d'une agglomération à l'autre suivant plusieurs facteurs, à savoir: la quantité de consommation en eau, le contenu en phosphore des détergents (0.5 - 12% par poids), et les habitudes locales (Henderson-Sellers et al., 1987; Hartig et al., 1986). La production moyenne en phosphore aux USA est autour de 4 g / capita / jour, et le volume des eaux usées produit autour de 380 à 570 L / capita / jour (Metcalf & Eddy 1991; Gray, 1989; Qasim, 1985).

En se basant sur ces données, et en considérant les régions où la réduction du phosphore dans les détergents n'est pas imposée, l'eau usée municipale peut contenir 6 à 10 mg / l de phosphore total. Pour cette concentration en P, un pourcentage de 30 à 50% provient des détergents (The Soap & Detergent Association, 1989; Henderson-Sellers et al., 1987). Ainsi les valeurs typiques en phosphore qu'on trouve dans les eaux usées municipales suivant les différentes formes de phosphore sont données dans le tableau 2.4. (The Soap & Detergent Association, 1989)

Tableau 2.4. Concentrations en phosphore dans les rejets domestiques en Amérique du Nord .

Forme de phosphore	Concentrations typiques (mg P/ L)
Orthophosphates	3 - 4
Phosphates condensés	2 - 3
Phosphore organique	1
Total	6 - 8

### 2.3. Procédés d'enlèvement du phosphore dans les eaux usées

Dans un système conventionnel d'épuration biologique des eaux usées, le phosphore contenu dans l'eau usée brute se trouve métabolisé par les micro-organismes. Les nutriments (C, P et N) sont requis à la croissance bactérienne dans les proportions moyennes de 100 DBO<sub>5</sub> : 5 N : 1 P (Metcalf & Eddy, 1991). Cependant les eaux usées municipales brutes présentent un surplus en azote et en phosphore avec un ratio C: N: P égal à 100: 17: 5 (Gray, 1989). En se basant sur ces valeurs, seulement autour de 20 % du phosphore est éliminé dans les systèmes conventionnels d'épuration biologique des eaux usées. Ces systèmes conventionnels peuvent fournir une efficacité d'enlèvement de 5 à 20 % par un traitement primaire, et 10 à 30 % par un traitement secondaire (Benefield et al., 1980). Ce taux d'enlèvement du P dépend du rapport DBO / P dans les eaux usées et de la quantité de phosphore recyclé à partir des installations de traitement des boues. Aussi, pour rencontrer des concentrations, à respecter pour ne pas porter préjudice aux écosystèmes, en phosphore présentées dans le tableau 2.3, d'autres procédés d'enlèvement du phosphore dans les eaux usées sont employés. L'ensemble de ces procédés est basé sur le fait de concentrer le phosphore dans les boues sous forme de boues chimiques ou biologiques et par la suite procéder à la séparation du solide et du liquide pour avoir un effluent avec des concentrations très faibles en phosphore.

Les procédés d'enlèvement chimique du phosphore dans les eaux usées consistent à l'addition de produits chimiques au cours de la filière de traitement pour former des sels de phosphore insolubles qui vont se retrouver dans les boues. Les produits communément utilisés pour ces fins sont l'alun ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ ), l'aluminate de sodium ( $\text{Na AlO}_2$ ); le chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ), le sulfate de fer ( $\text{FeSO}_4$ ), le chlorure ferreux ( $\text{FeCl}_2$ ), la liqueur de saumure, et la chaux ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) (USEPA, 1987). Ces produits chimiques, à l'exception de la chaux, peuvent être ajoutés en différents points de la filière d'épuration: (Metcalf & Eddy, 1991):

- Avant la décantation primaire (pré-précipitation),
- Directement dans, ou immédiatement après ,ou avant le bassin d'aération ( précipitation simultanée ),
- Après le traitement biologique et la décantation secondaire (post-précipitation).

La chaux peut être employée seulement en pré-précipitation ou en post-précipitation, car les eaux usées traitées à la chaux pour l'enlèvement du phosphore ont des pH typiquement élevés

(pH > 10) qui sont préjudiciables à la croissance bactérienne (Metcalf & Eddy, 1991).

Actuellement, l'enlèvement chimique du phosphore est une technique fiable bien établie pouvant généralement donner des concentrations en P dans l'effluent inférieures à 1 mg P/L. C'est une technique largement utilisée et plusieurs guides de conception de la déphosphatation chimique sont disponibles, à savoir: USEPA (1974 et 1987), WPCF (1983), Wiechers (1987).

Bien que la déphosphatation chimique donne une qualité de l'effluent très satisfaisante, elle présente certains inconvénients, tels que:

- Les coûts élevés d'opération du procédé liés aux produits chimiques, surtout quand on veut atteindre des concentrations inférieures à 1 mg P/L dans l'effluent, car les quantités de produits chimiques à utiliser sont très importantes (USEPA, 1987).
- L'importance de la quantité de boues produites par des procédés chimiques par rapport aux quantités produites par les procédés biologiques conventionnels. Veldkamp (1984) a montré, en considérant plusieurs usines opérant la déphosphatation chimique des eaux usées, que la quantité de boues produites est très influencée par la quantité de produits chimiques utilisés, dans le sens d'une augmentation importante de volume de boues par rapport aux stations d'épuration conventionnelle à boues activées.
- Les boues activées chimiques présentent en général des difficultés de déshydratation comparées aux boues activées conventionnelles (USEPA, 1987).

L'enlèvement biologique du phosphore (EBP) semble offrir un potentiel considérable pour contrer les inconvénients que présente les procédés chimiques. Ainsi, un système de boues activées avec une séquence d'une zone anaérobie suivie d'une zone aérobie peut induire le développement de boues contenant 2 à 3 fois plus (3.5 à 6 % de P par poids de matières volatiles solides suspendues), que le contenu en P des boues d'un système conventionnel (1.5 à 2 % de MVS) (Arvin, 1985; Tétreault et al., 1986). Mais le degré d'enlèvement biologique dépend de la composition des eaux usées brutes et de la capacité d'assimilation du phosphore par la biomasse (USEPA, 1987). Cependant, les stations d'épuration pratiquant un enlèvement biologique du phosphore peuvent atteindre des efficacités d'enlèvement de P de 80 à 90 % et pouvant produire parfois un effluent contenant moins de 1 mg P/L (Yeoman et al., 1988). Il est aussi rapporté par

Tétreault et al. (1986) qu'avec des eaux usées présentant un rapport DBO : P de 20 à 25, des systèmes d'EBP peuvent fournir un effluent de 1.0 à 2.0 mg/L de phosphore total. Pour des systèmes d'EBP qui doivent répondre à normes de concentration en phosphore total inférieur à 1 mg P/L dans l'effluent, le procédé biologique est combiné à l'addition de sels métalliques et/ou à la filtration secondaire de l'effluent (USEPA, 1987).

D'autres alternatives aux procédés chimiques et biologiques sont aussi utilisées pour l'enlèvement

du phosphore dans les eaux usées, une description résumée de ces différentes techniques est présentée ci-dessous:

- Cristallisation par lit fluidisé: Elle consiste à faire passer l'effluent secondaire sur des cristaux de calcium, et la soude est ajoutée à l'effluent pour relever le pH à une valeur supérieure à 9. Ces conditions permettent d'avoir une précipitation du phosphore par la formation des apatites amorphes. Un effluent ne contenant que 1 mg P/L est obtenu (Meganck et al., 1988).
- Échange d'ions: Généralement, un milieu poreux constitué d'une résine échangeuse de l'anion chlorure est utilisée. Cette résine enlève les phosphates avec une bonne sélectivité. Cependant la matière en suspension contenue dans l'affluent, peut entraîner le colmatage du milieu, et aussi la résistance chimique et biochimique de la résine est parfois compromise.
- Adsorption: Des adsorbants tels que les silicates de magnésium et l'alumine activée sont utilisés. Les expériences effectuées par Donnert et al. (1982), cités dans Meganck et al. (1988), en utilisant des oxydes de magnésium, ont montré que l'enlèvement du P est faible. Cependant, avec l'alumine activée un pH optimum de 4 est nécessaire pour l'adsorption des orthophosphates et aussi des polyphosphates. Le milieu est régénéré par un traitement avec la soude et le phosphore contenu dans la soude de régénération est enlevé par précipitation avec la chaux ( Meganck et al., 1988).
- Récupération électrochimique: Cette technique a été utilisée par Poon (1973) en faisant passer des eaux usées et l'eau de mer à travers une cellule électrolytique avec une anode en graphite

fixé en bas de la cellule et une cathode en fer en dessus. L'eau de mer a servi comme électrolyte. Aussi, à l'anode les chlorures sont oxydés en gaz chlore  $\text{Cl}_2$  et à la cathode les ions  $\text{H}^+$  sont réduits en gaz  $\text{H}_2$ . La réaction se produisant entraîne l'augmentation du pH près de l'électrode, induisant alors une précipitation de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Mg NH}_4 \text{PO}_4$  et  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . Ces précipités sont séparés du surnageant par flottation quand les précipités sont piégés par les gaz générés par les réactions électrochimiques. Cette technique requiert une puissance autour de  $1.2 \text{ kwh/ m}^3$  en ne tenant pas compte de l'énergie requise au pompage de l'eau de mer.

- Traitement par les plantes aquatiques: Les plantes aquatiques telles que les macrophytes ont des besoins en nutriments C, N et P pour leur croissance. Par photosynthèse elles utilisent le carbone inorganique comme source de carbone. Reddy et al., 1985 relatent que ces plantes ont des capacités importantes pour enlever l'azote et le phosphore dans les eaux usées. Des taux d'enlèvement du phosphore obtenus variant de 8 à 89% ont été rapportés dans la littérature Michaud et al., (1994).
- Filtration sur lit profond: Gros et al. (1980) ont obtenu des concentrations en phosphore dans l'effluent inférieures à  $1.0 \text{ mg P/L}$  en utilisant cette technique. Elle consiste à faire passer l'effluent secondaire à travers un filtre granulaire en plusieurs couches de silice, de sable et de pierres avec différentes granulométries. Les produits chimiques pour précipiter le phosphore sont ajoutés dans l'affluent et un lavage périodique du filtre est pratiqué.

#### 2.4. Déphosphatation biologique des eaux usées

Barnard (1976, 1979) a conclu que pour réaliser un enlèvement biologique du phosphore, la liqueur mixte de recyclage du bassin d'aération doit être mise en contact avec l'affluent dans des conditions anaérobies (absence d'oxygène dissous et de nitrates dans la liqueur mixte). Il est généralement accepté (Wentzel et al., 1988; Barnard, 1984; USEPA, 1987) que la séquence anaérobie / aérobie apparaît promouvoir la croissance de bactéries aérobies qui ont la capacité d'utiliser en excès les phosphates présentes dans la liqueur mixte et de les stocker dans leurs cellules sous formes de polyphosphates inorganiques (poly-P). Nicolls et al., (1979) sont les

premiers à avancer que, sous les conditions anaérobies, les bactéries accumulant le phosphore (bactéries bio-P), stockent des composés organiques simples tels que les acides gras volatils (AGV) sous formes de poly- $\beta$ -hydroxybutyrates (PHB). L'énergie requise pour l'utilisation et le stockage de ces substrats est produite par l'hydrolyse des poly-P intracellulaires, entraînant un relargage des phosphates dans la liqueur mixte sous les conditions anaérobies. Les bactéries bio-P ne peuvent pas compétitionner avec les autres souches bactériennes aérobies pour utiliser les substrats extra-cellulaires, car elles utilisent les substrats intracellulaires auparavant stockés pour produire l'énergie nécessaire à leur croissance et à l'accumulation de polyphosphates. Ainsi la séquence anaérobie / aérobie fournit aux bactéries bio-P d'être plus compétitives en assimilant la majorité du substrat soluble facilement biodégradable dans les eaux usées. La figure 2.1 illustre le schéma général du mécanisme qui a lieu dans un système d'enlèvement biologique du phosphore (Meganck et al., 1988).

Depuis que l'enlèvement excessif du phosphore a été observé dans des systèmes d'épuration des eaux usées, une controverse a surgit car on n'était pas certain si le mécanisme est bien biologique ou s'il est causé par une précipitation chimique des composés inorganiques. Levin et al., (1965) sont les premiers à prouver que le phénomène se produisant est bien biologique. Ils ont observé que le 2-4 dinitrophenol, un inhibiteur de la formation de l'ATP à travers la dégradation des poly-P par phosphorylation, avait un effet préjudiciable sur l'utilisation du phosphore par la biomasse bio-P. Ils étaient aussi les premiers à relier la présence intracellulaire de composés de carbone après l'utilisation de carbone, par des essais en mode batch en utilisant des échantillons de boues activées d'une usine d'épuration d'EBP et en les aérant avec ajout d'une part et sans ajout d'autre part des eaux usées. La magnitude d'enlèvement du phosphore observée est plus grande pour les échantillons avec ajout d'eaux usées. En plus, le relèvement du pH des échantillons aérés de 7 à 9 unités réduit l'enlèvement du phosphore, ce qui contredit la supposition qui stipulait que le mécanisme d'enlèvement du P était chimique. Des résultats similaires ont été obtenues par d'autres chercheurs tels que Fuhs et al., (1975), Comeau et al. (1987). L'analyse de présence de poly-P dans les boues des usines d'EBP a aussi confirmé que le mécanisme d'enlèvement du P est biologique comparé aux boues d'usines qui opèrent la précipitation chimique, en utilisant la technique de diffraction aux rayons X (Yall et al., 1980;

Buchan, 1983), la microscopie électronique (Hascoet et al., 1985a), la résonance magnétique (Jing et al., 1992). Basé sur ces évidences on a conclu que la partie la plus importante du phosphore est enlevé biologiquement dans des procédés d'EBP. Et sous des cas spéciaux, le mécanisme devient chimique et peut compléter le mécanisme biologique, quand le pH de la liqueur mixte est de 7.5 à 8.5 unités et quand on est en présence de fortes concentrations en calcium (Yeoman et al., 1988).

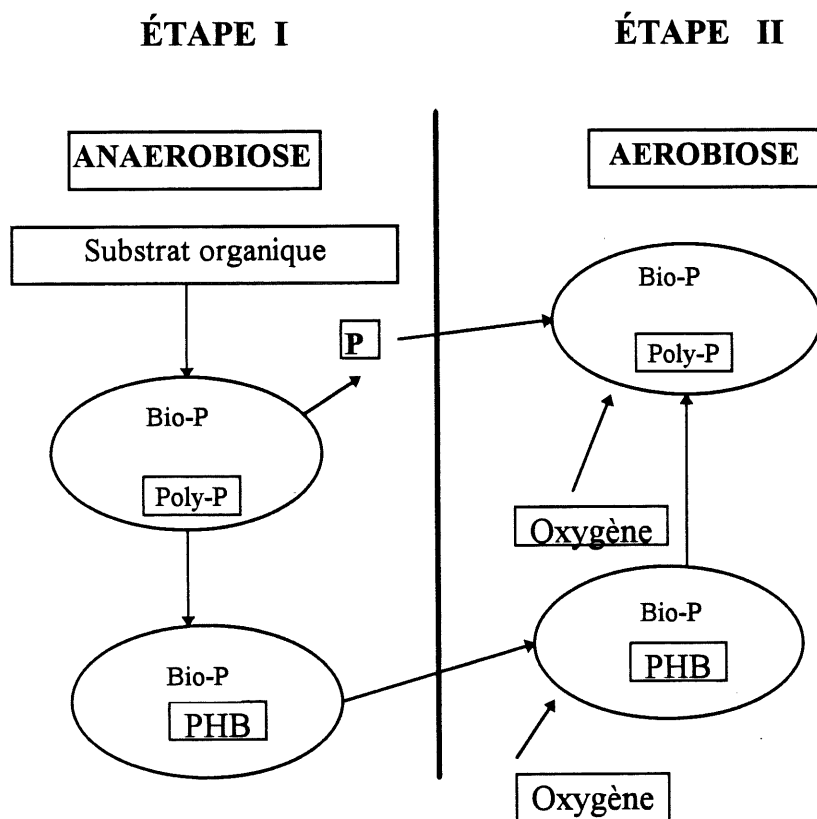


Figure. 2.1. Schéma général du processus d'enlèvement biologique du phosphore.

Plusieurs chercheurs ont observé une assimilation des substrats solubles et des concentrations importantes d'orthophosphates dans les zones anaérobies des systèmes d'EBP. Marais et al. (1983) et Bordacs et al. (1989), ont rapporté que le substrat soluble disponible pour les bactéries bio-P sous des conditions anaérobies se trouve sous deux formes:

a) les produits naturellement fermentables tel que le formiate, l'acétate, le propionate, le butyrate, le lactate et l'éthanol. Ces composés ne nécessitent aux bactéries aucune opération d'hydrolyse et ils sont directement assimilables par les bactéries bio-P pour les stocker sous



formes de PHB.

b) d'autres composés complexes tels que les sucres, qui nécessitent de subir en un premier lieu une biodégradation par les bactéries anaérobies facultatives généralement sous forme d'acétate avant d'être disponibles pour être transformés en PHB par les bactéries bio-P. Wanner et al. (1990) ont rapporté que le substrat particulaire ne peut pas être biodégradé par les bactéries bio-P sous les conditions anaérobies, car le taux de leur hydrolyse est pratiquement d'ordre zéro. Ces chercheurs ont utilisé deux réacteurs en continue de laboratoire alimentés par des eaux usées synthétiques formées de composés solubles et particulaires, ils ont observé une faible efficacité de l'enlèvement biologique du phosphore quand la portion soluble du substrat est remplacée par des composés particulaires.

En se basant sur la quantité de substrat consommé sous les conditions anaérobies et la quantité des PHB stockée, Bordacs et al. (1989), Comeau et al. (1987), et Potgieter et al. (1983) rapportent que les substrats solubles les plus disponibles pour les bactéries bio-P sont l'acétate et le propionate. Bordacs et al. (1989) ont observé qu'une quantité considérablement importante de PHB a été intracellulairement stockée par les bactéries bio-P en utilisant l'acétate comme, substrat par rapport à la quantité stockée en présence du glucose. Basés sur des essais en batch, ils ont conclu qu'avec le glucose comme substrat, la quantité des PHB stockée par les bactéries bio-P, par nombre de carbone ajouté, seulement 60% de la quantité observée avec l'acétate a été obtenue, bien qu'à peu près la même quantité de phosphore relargué a été mesurée dans les deux cas. Abu-Ghrarah et al. (1991) en étudiant l'effet des différents substrats sur l'EBP dans un système à débit continu, ont conclu que la quantité de phosphore enlevée par rapport à l'acide gras volatil (AGV) ajouté, décroît quand le nombre d'atomes de carbone composant l'AGV augmente. Une corrélation du phosphore utilisé par rapport au phosphore relargué pour chaque AGV utilisé dans les expériences d'Abu-Ghararah et al. (1991) est donnée par la figure 2.2, on pourra remarquer un classement de l'importance de ces AGV à stimuler l'EBP, avec le maximum obtenu par l'ajout de l'acide acétique.

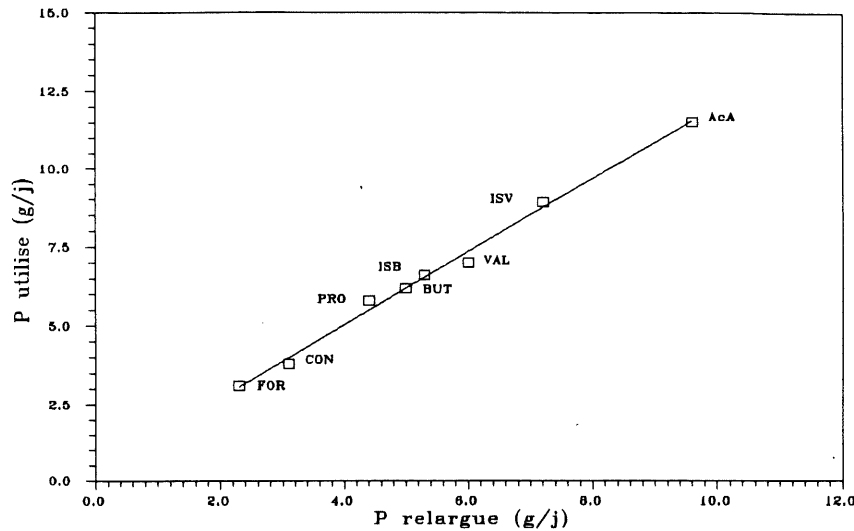


Figure. 2.2: Corrélation du phosphore relargué avec le phosphore utilisé.  
 (AcA: acide Acétique, ISV: ac. Isovalérique, VAL: ac. Valérique,  
 ISB: ac. Isobutyrique, BUT: ac. Butyrique, PRO: ac. Propionique,  
 FOR: ac. Formique, CON: Contrôle, pas d'ajout d'AGV.)

En utilisant des expériences en batch plusieurs chercheurs ont déterminé le rapport molaire du phosphore relargué par rapport à l'acétate assimilé par les bactéries bio-P. Ces ratios varient de 0.3 à 1.5 mole P relargué/mole d'acétate consommé (tableau 2.5).

Dans les cas où de faibles valeurs de P relargué/Acétate utilisé ont été rapportées, la consommation de l'acétate par les bactéries dénitrifiantes n'a pas été prise en compte par : Fukase et al. (1982), Arun et al. (1988), et Mino et al. (1987). Ainsi tout l'acétate consommé a été considéré, à notre sens, par erreur comme favorisant le relargage du phosphore et ainsi de faibles ratios ont été calculés. Mino et al. (1987) et Arun et al. (1988) ont rapporté la réduction des carbohydrates avec des ratios molaires de 0.02 à 0.34 moles de carbohydrates utilisés par mole d'acétate consommé. Cependant, Bordacs et al. (1989) par des essais similaires en batch n'ont observé aucun changement dans le glycogène contenu dans les cellules bio-P sous des conditions anaérobies.

Tableau 2.5. Rapports molaires du phosphore relargué par rapport à l'acétate consommé par les bactéries bio-P.

P relargué / Ac. utilisé (mole / mole)	PHB stocké / Ac. utilisé (mole / mole)	Taux d'utilisation de l'acétate (mg DCO / g MVS. h)	Références
0.9 <sup>(a)</sup>	0.31	ND	Fukase et al. (1982)
1.4	ND	ND	Arvin (1985)
1.08	1.21 - 2.98 <sup>(b)</sup>	ND	Wentzel et al. (1985)
0.29 - 0.78 <sup>(a)</sup>	ND	20.4 - 31.3	Mino et al. (1987)
1.4 - 1.6	0.50	22.9 - 32.9	Comeau et al. (1987)
0.42 - 0.77 <sup>(a)</sup>	0.38 - 0.68	16 - 35	Arun et al. (1988)

(a) La dénitrification n'a pas été considérée.

(b) Les bactéries bio-P contiennent 0.38 mg P / mg MVS.

ND: non disponible.

L'effet de l'ajout des substrats facilement biodégradables ,autres que l'acétate, sur le relargage du phosphore et le stockage de composés de carbone sous des conditions anaérobies, a été rapporté par plusieurs études (Arun et al., 1989; Arvin et al., 1985; Fukase et al., 1982; Comeau et al. 1987). Comeau et al. (1987) ont montré qu'en plus de la formation des PHB, d'autres polymères organiques de carbone, tels que les poly-β-hydroxyvalérates (PHV) sont stockés par les bactéries bio-P lors du relargage du phosphore. Le stockage des PHV a été favorisé par l'ajout des acides gras, tels que le valérate et le propionate. Arun et al. (1989) ont trouvé une décroissance significative des polysaccharides contenus dans la biomasse bio-P sous des conditions anaérobies, et ils ont conclu qu'elle est due à l'EBP. Contrairement, à ces résultats, Fukase et al. (1982) trouvaient une croissance significative des réserves de polysaccharides sous des conditions anaérobies.

Le relargage et l'utilisation de cations est bien associé au relargage et à l'utilisation du phosphore par la biomasse bio-P. Les cations les plus concernés sont le potassium et le magnésium et en moindre importance le calcium. Les ratios molaires de cations co-transportés avec les phosphates à l'intérieur de la cellule bio-P sont présentés dans le tableau 2.6. En

général les valeurs déterminées par les différents auteurs sont comparables.

Tableau 2.6. Ratios des cations co-transportés avec les phosphates par les bactéries bio-P.

Cation/P (mole/mole)	Myamoto- Milles et al. (1983)	Comeau et al. (1987)	Arvin (1985)	Wentzel et al. (1989)
Mg <sup>2+</sup> /P	0.26	0.24	0.23	0.26
K <sup>+</sup> /P	0.27	0.34	0.32	0.30
Ca <sup>2+</sup> /P	0.00	0.06	ND	0.05
Charges/P	0.79	0.94	0.87	0.92

En considérant les mécanismes mis en jeu par l'EBP et l'effet des différents composés organiques sur les bactéries bio-P, nous pouvons résumer les plus importants facteurs-clés associés à l'EBP comme suit:

- Sous les conditions anaérobies, les bactéries bio-P sont capables d'assimiler des produits simplement fermentescibles avec relargage du phosphore.
- Toute croissance ou décroissance du substrat disponible aux bactéries bio-P peut avoir un effet positif ou négatif sur l'efficacité du procédé d'EBP.
- Sous les conditions aérobies, les bactéries bio-P ne peuvent pas compétitionner avec les autres bactéries aérobies parce que les bio-P utilisent leurs réserves en carbone organique pour produire l'énergie nécessaire à leur croissance et à l'accumulation du phosphore.

## 2.5. Caractéristiques des micro-organismes accumulant les polyphosphates

Les polyphosphates inorganiques ont été détectés dans une large communauté microbienne, tels que: eubactéries, cyanobactéries, champignons, algues et protozoaires (Harold, 1966; Kulaev et al., 1983). Fuhs et al. (1975) ont conclu que dans les usines d'épuration des eaux usées effectuant l'EBP seulement un genre de bactéries est largement responsable de cet enlèvement biologique du phosphore. Ils étaient les premiers chercheurs à isoler l'*Acinetobacter* spp des boues activées d'un système d'EBP. Deinema et al. (1980) ont isolé à partir de boues activées bio-P les bactéries qui présentent l'abilité à stocker les polyphosphates et ont trouvé que toutes ces bactéries appartiennent au genre *Acinetobacter*. Buchan (1983) a rapporté que l'*Acinetobacter* représente de 48 à 68 % des bactéries hétérotrophes gram négatives identifiées dans un système d'EBP. Lötter (1985) relate des pourcentages de 56 à 66 % de l'ensemble de la population bactérienne cultivée. Dans le même ordre de grandeur, Kerdachi et al. (1987) donnent un pourcentage de 73 %. Beacham et al. (1992) ont isolé 156 espèces d'*Acinetobacter* d'un pilote effectuant l'enlèvement biologique des nutriments. Parmi ces espèces, la capacité d'accumulation du phosphore a été trouvée chez 51 % de ces espèces sous des conditions de concentrations faibles en phosphore, chez 39 % sous les conditions d'un milieu à forte concentration de phosphore, et seulement 10 % des espèces isolées ne peuvent pas accumuler le phosphore. Les échantillons de boues activées utilisés dans les études citées ci-dessus ont été recueillis à partir de systèmes d'EBP traitant les eaux usées municipales. Dans les cas où l'acétate était utilisé pour stimuler l'EBP l'*Acinetobacter* est trouvée plus dominante. Lötter et al. (1985) relatent que 90 % du total de bactéries activées dans un système d'EBP appartiennent au genre *Acinetobacter*, quand l'acétate représente plus de 60 % de la DCO totale dans l'affluent. Dans le même sens, Wentzel et al. (1989b), dans une tentative de développer des cultures bactériennes qui augmentent le stockage des polyphosphates en utilisant l'acétate comme seule source de carbone, ont rapporté que presque 100 % de la population bactérienne totale appartient au genre d'*Acinetobacter*.

L'*Acinetobacter* peut exister dans le sol, l'eau et l'eau usée (Stanier et al., 1986). La bactérie est aérobique, gram négative, de forme cylindrique de 1 à 1.5  $\mu\text{m}$  par 1.5 à 2.5  $\mu\text{m}$  en phase de croissance exponentielle, elle tend à prendre la forme spiralée en phase stationnaire de croissance

(Buchan, 1983). Les caractéristiques les plus communes aux différentes espèces d'*Acinetobacter* sont identifiées comme suit (Beacham et al., 1992):

- non mobiles;
- strictement aérobies;
- négatives au test d'oxydase;
- contiennent l'enzyme catalase;
- composition de l'ADN avec 37 à 47 % moles % G + C;
- température optimale de croissance: 33 à 35 °C.

L'*Acinetobacter* isolée des systèmes d'EBP a la capacité de stocker du carbone sous forme de PHB et d'accumuler le phosphore, jusqu'à 10 à 20 % de P par rapport au poids sec, sous forme de polyphosphates (Deinema et al., 1980). Dans les systèmes d'EBP, les bactéries sont présentes sous forme de grappes agglomérées de cellules avec 1 mm de diamètre couvert par une mince couche extra-cellulaire de composés (Hart et al., 1982; Buchan, 1983). Toutes les souches peuvent croître aérobiquement dans un milieu avec des composés de carbone simples, tels que: l'acétate, le lactate et le 2,3 butanediol; et avec des sels d'aluminium ou de nitrate comme source d'azote. Quelques souches utilisent le glucose comme source de carbone et d'énergie exclusivement via le cheminement biochimique d'Etner-Dondorff (Juni, 1978).

Lötter et al. (1985) et Streicham et al. (1990) relatent que beaucoup de souches d'*Acinetobacter* possèdent la capacité de réduire les nitrates simultanément avec l'enlèvement du phosphore. Quelques souches, cependant, peuvent réduire les nitrates en azote gazeux. Horan (1990) rapporte qu'autour de 40% des micro-organismes dans les systèmes conventionnels de traitement des eaux usées sont de genre *Acinetobacter*. Ce pourcentage atteint 80% des espèces quand le système effectue une déphosphatation biologique. Dans beaucoup de systèmes d'EBP, d'autres espèces ont été trouvés capables d'enlever le phosphore. Brodish et al. (1983) ont trouvé que dans un système d'EBP, l'*Acinetobacter* était présente en moindre proportion (5 à 10% de la population microbienne totale). Ils suggéraient que les bactéries du genre *Aéromonas* et *Pseudomonas* sont impliquées dans l'enlèvement du phosphore parce qu'elles constituaient 50% de la culture bactérienne dans le réacteur. Lötter et al. (1985) ont isolé les bactéries de type *Pseudomonas* et *Aéromonas* comme bactéries gram positives qui étaient capables de stocker les

phosphates dans un milieu d'une eau usée fermentée. Les bactéries filamenteuses *Microthrix parvicella* auxquelles est associée la formation des écumes (Jenkins et al., 1986), ont été aussi trouvées capables d'accumuler les polyphosphates dans un système d'EBP par Best et al. (1985). En utilisant des cultures pures Gersberg et al. (1985) ont démontré que la souche *Klebsiella pneumoniae* privée de phosphore pendant un certain temps, accumule plus de polyphosphates que l'*Acinetobacter calcoaceticus*, quand le milieu de croissance est de nouveau enrichi avec du phosphore et du carbone. Shoda et al. (1980) ont isolé une souche gram positive dans le sol identifiée comme *Acinetobacter globiformis* qui présente la capacité d'accumuler du phosphore intra-cellulairement jusqu'à 20% de son poids sec. Dans des études similaires Surech et al. (1985) ont isolé la souche *Pseudomonas vesicularis* à partir des eaux usées, qui a la capacité de stocker une large quantité de polyphosphates. Toutes les espèces ci-dessus mentionnées ont été utilisées comme des cultures pures dans les essais réalisés, et il est douteux qu'elles peuvent toujours maintenir leurs comportements admissibles dans les conditions naturelles réelles de traitement des eaux usées.

L'espèce *Acinetobacter* ne peut pas toujours avoir la capacité de stocker les polyphosphates. Brodish (1985) a rapporté que 67% de l'ensemble de bactéries présentes dans un pilote de laboratoire appartiennent au genre *Acinetobacter*. Cependant, aucun enlèvement significatif de phosphore qui pourra être observé indiquera que la présence d'*Acinetobacter* ne peut pas garantir l'EBP. Seulement quand *Acromonas punctata* est aussi présente, car elle peut fournir un EBP. Brodish (1985) suggère que *A. punctata* et *A. calcoaceticus* ont une relation de synergie quand les substrats de base pour la formation de l'acétate sont utilisés par l'*Acinetobacter*, sous les conditions anaérobies. Des résultats similaires ont été rapportés par Lötter (1985) et Lötter et al. (1985), quand ils ont démontré qu'un grand nombre d'*Acinetobacter* (jusqu'à 60 %) sont présentes dans des systèmes de traitement des eaux usées avec réacteurs biologiques exclusivement aérobiques et qui donnent un enlèvement négligeable de phosphore. Ils ont observé que l'*Acinetobacter* isolée à partir de deux systèmes; d'une part un exclusivement aérobique et d'autre part un système d'EBP, peut stocker les polyphosphates et les PHB quand le milieu de croissance est composé de glucose ou d'acétate. Basés sur ces résultats, ils ont conclu que la présence de souches d'*Acinetobacter* apparaît être un pré-requis pour l'EBP mais n'est pas l'unique condition requise.

La difficulté d'établir quelle est la différence entre toutes les espèces de micro-organismes bio-P impliqués dans les systèmes d'EBP peut être attribuée à deux raisons. La première a été rapportée par Streicham et al. (1990); par le fait que la population des bactéries bio-P dépende de la modalité de conception du procédé et de la composition des eaux usées, dans les systèmes d'EBP. La seconde réside dans la possibilité d'erreurs liées à la méthode d'échantillonnage, d'isolation et d'identification de la population bactérienne dans un système d'EBP. Il est relaté par Beacham et al. (1990) que tout essai pour développer une souche bactérienne dans un milieu donné va inévitablement favoriser d'autres souches. Duncan et al. (1988) ont montré que le nombre de bactéries *Acinetobacter* développées dans un milieu composé de l'acétate est quatre fois plus important que le nombre obtenu en utilisant un milieu où la levure à base de casitone-glycérol est le principal substrat. En plus, une méthode fiable de comptage sur plaque, requiert que tous les micro-organismes soient dispersés sur la plaque. Aussi, l'*Acinetobacter* croît sous forme de grappes de cellules et toute tentative de faire disperser les cellules entraîne leur destruction et le comptage ne pourra pas être réalisé d'une manière fiable. Pour ces raisons, il faut conclure que le rôle des différents micro-organismes requis dans un système d'EBP n'est pas lucide, et que d'autres investigations dans ce sens sont nécessaires. Cependant, il s'avère que l'espèce *Acinetobacter* joue un rôle vraisemblablement important au sein de la population bactérienne accumulant les polyphosphates dans un système d'EBP.

## 2.6 Modèles biochimiques de la déphosphatation biologique

L'enlèvement biologique du phosphore est le résultat de deux phénomènes principaux, à savoir:

- Le stockage de matières organiques avec relargage du phosphore de la biomasse sous des conditions anaérobies;
- L'accumulation des polyphosphates par cette biomasse sous les conditions aérobies avec métabolisme de la matière organique précédemment stockée.

Ainsi, la soumission de la biomasse à une séquence de conditions anaérobie (absence d'oxygène



et de nitrates), aérobie (présence d'oxygène et possiblement de nitrates) et anoxie (présence de nitrates et absence d'oxygène), est capitale pour l'enlèvement biologique du phosphore dans les eaux usées.

Le procédé obéit donc à un modèle biochimique du comportement des bactéries bio-P en présence de conditions favorables à leur stimulation. Différentes hypothèses ont été proposées pour expliquer le mécanisme du fonctionnement biochimique de cette biomasse bio-P.

Nicolls et al. (1979) proposaient que les micro-organismes sont en état de stress sous des conditions d'anaérobiose et leur survie est garantie par les polyphosphates dont ils disposent à l'intérieur de leur cellule bactérienne. D'autres recherches ont expliqué le fonctionnement de la biomasse bio-P, sous les conditions anaérobies, par le rôle principal du stockage de la matière organique sous forme de composés de carbone (PHB).

Les modèles proposés (Rensink et al., 1981; Wentzel et al., 1986; Marais et al., 1983; Comeau et al., 1986) suggèrent que le rôle principal du stage anaérobie est de développer ces conditions de stress; ils proposent différentes interprétations sur le fonctionnement biochimique de la biomasse dans ces conditions.

Puisque tous les modèles biochimiques d'EBP reposent sur le métabolisme des PHB et des polyphosphates, nous commençons d'abord par décrire ce métabolisme.

#### 2.6.1 Métabolisme bactérien des polyphosphates

Les polyphosphates inorganiques sont des polymères d'orthophosphates selon différents schémas présentés par la figure 2.3.

Les orthophosphates composant les polyphosphates sont reliés par une liaison chimique équivalente à celle qui relie le triphosphate à l'adénosine dans une molécule d'adénosine triphosphate (ATP) (Harold, 1966; Kulaev, 1979). Les poly-P se présentent comme complexe avec les protéines, les lipides, l'adénosine ribonucléique et le magnésium, formant ce qu'on

appelle des granules volutins (Dawes et al., 1973; Fuhs et al., 1975). Ces granules présentent une teinte métacromatique avec une coloration au bleu de méthylène ou de toluène. Heymann et al. (1989) ont confirmé la composition chimique des granules poly-P observés dans les bactéries isolées à partir d'un système d'EBP et à partir de cultures bactériennes pures genre *A. calcoaceticus*.

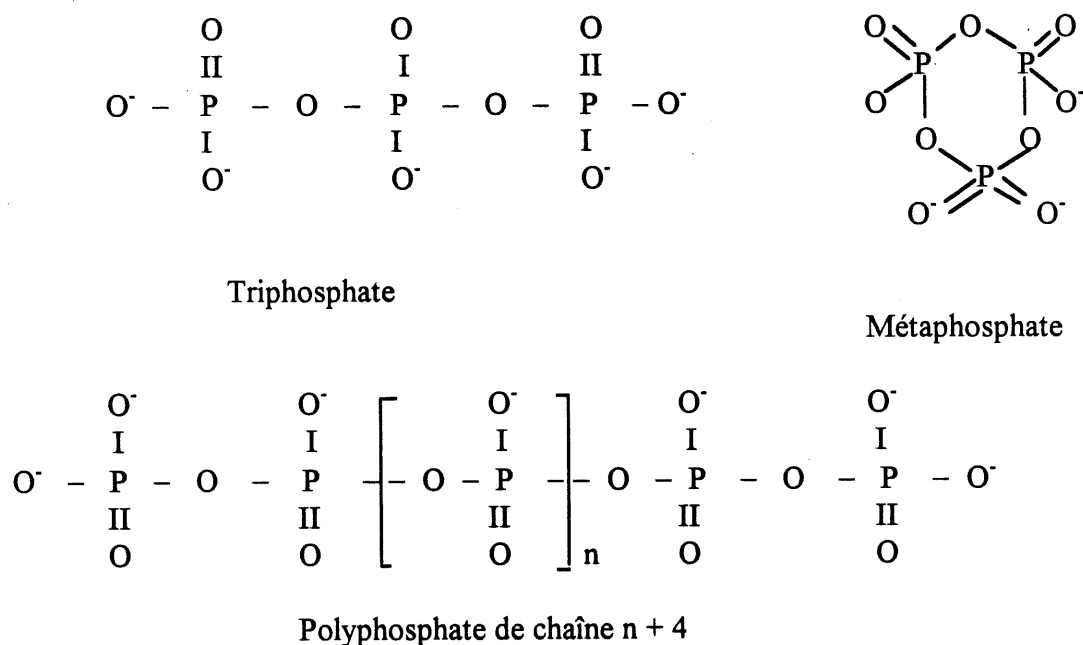
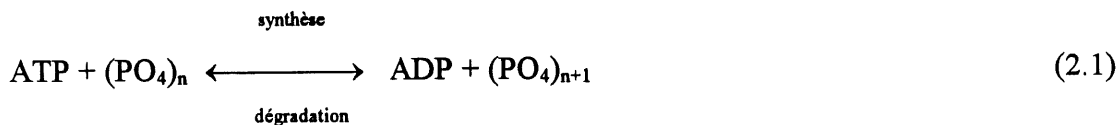


Figure 2.3 Structure de quelques polyphosphates inorganiques.

La bio-synthèse des poly-P est réalisée par un seul cheminement biochimique (Harold, 1966; Kulaev, 1979), catalysé par l'enzyme polyphosphate kinase selon l'équation 2.1 suivante:



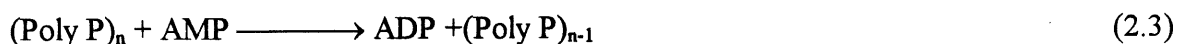
La bio-synthèse des poly-P est fortement inhibée par l'adénosine diphosphate (ADP) car elle dépend du rapport ATP/ADP (Marais et al., 1983).

La dégradation des poly-P peut être catalysée par différentes enzymes:

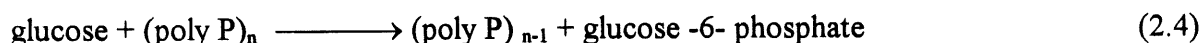
- (i) La réaction réversible de l'équation 2.1, où à un faible rapport ATP/ADP, les polyphosphates peuvent contribuer à la synthèse de l'ATP (Kulaev et al., 1983).
- (ii) La dégradation des poly-P catalysée par des enzymes hydrolitiques (polyphosphatases) selon l'équation 2.2 (Harold, 1966). L'enzyme est contrôlée par le niveau d'orthophosphates extra-cellulaires.



- (iii) L'enzyme polyphosphate - adénosine - mono-phosphate (AMP) phospho-transférase (Harold, 1966); selon l'équation 2.3:



- (iv) L'enzyme polyphosphate glucokinase qui catalyse le transfert du glucose en présence des polyphosphates à grand poids moléculaire, pour donner du glucose sous forme de glucose - 6- phosphate, selon l'équation (2.4) (Kulaev et al., 1983):



Toutes ces réactions biochimiques démontrent que dans certains cas, les poly-P remplacent la fonction de l'ATP comme source d'énergie.

Le rôle physiologique des poly-P n'est pas très bien défini, et il semble qu'ils jouent plus d'un rôle. Il est généralement accepté (Harold, 1966) que les polyphosphates peuvent servir dans plusieurs réactions biochimiques. Sous des conditions de manque de substrat, les polyphosphates peuvent être hydrolysés suivant la réaction (2.2) pour donner des orthophosphates dans la liqueur mixte. L'addition de phosphates à un milieu où séjournent des micro-organismes

préalablement affamés au phosphore, provoque une accumulation rapide des polyphosphates. Ce phénomène est dû à la surcompensation de la carence en phosphore (« phosphate over plus ») que réalisent ces micro-organismes. Ces polyphosphates sont dégradés graduellement par la suite (Harold, 1966). Ferguson et al. (1979) ont rapporté une diminution de polyphosphates dans les conditions où on a un rapport ATP/ADP faible, indiquant que les polyphosphates peuvent être utilisés comme source d'énergie. Lan et al. (1983) ont observé l'utilisation des pyrophosphates et d'autres polyphosphates à fort poids moléculaire par des bactéries anaérobies pour assurer leur croissance. Ils ont rapporté qu'un milieu contenant des polyphosphates peut garantir la croissance des micro-organismes, alors qu'il n'y a pas de croissance quand les polyphosphates sont remplacés par des orthophosphates en solution, ce qui indique que les polyphosphates ne servent pas uniquement comme réserve de phosphore. Plusieurs chercheurs ont étudié le comportement des polyphosphates intracellulaires dans les systèmes d'EBP. Fuhs et al. (1975), et Buchan (1983) ont observé une solubilisation ( ou un relargage) des polyphosphates inorganiques sous des conditions anaérobies quand le rapport ATP/ADP est faible. Mino et al. (1985) ont trouvé une disparité des résultats au sujet du rôle des polyphosphates sous des conditions anaérobies, pour des polyphosphates à faible poids moléculaire elles constituent une source d'énergie, par contre pour des polyphosphates à fort poids moléculaire, elles sont une source de phosphore.

En conclusion, il apparaît que les polyphosphates intracellulaires des micro-organismes, servent comme réserve de phosphate activée disponible à être utilisée dans différents processus métaboliques et dans plusieurs cas comme régulateurs du rapport ATP/ADP de la cellule bactérienne.

#### 2.6.2. Métabolisme des PHB, des PHV et du glycogène

Les PBH sont formés d'une suite de chaîne de polymères de D (-)-3- hydroxybutyrate, qui ne sont pas très solubles dans l'eau (Dawes et al., 1973). Plusieurs espèces de bactéries gram positives et gram négatives peuvent stocker les PHB, pour former des granules intracellulaires de PHB dans les conditions où la composition du substrat est déséquilibrée. Les PHB peuvent

être identifiés par coloration des micro-organismes avec du noir de Soudan (« Sudan Black »), quand des granules bleu-noirs intracellulaires sont observés, alors que le cytoplasme est taché rose ou il devient clair (Jenkins et al., 1986).

Le mécanisme régulateur de la bio-synthèse et de la dégradation des PHB est montré par la figure 2.4 (Stanier et al., 1986).

Le PHB est un composé qui peut être réduit par les micro-organismes. Il peut aussi servir comme source d'énergie pour ces micro-organismes durant les périodes où le substrat et l'oxygène sont limitants. Senior et al. (1972) ont trouvé que sous des conditions limitantes d'oxygène, l'accumulation de la nicotinamide adénine dinucléotide réduite (NADH), inhibe le métabolisme du glucose via le cheminement d'Entrer Doudoroff et le cycle de l'acide tricarboxylique (TCA). Ces conditions mènent à une augmentation de l'acétyl coenzyme A (Acétyl CoA) et de NADH. Cette biosynthèse simultanée des PHB, qui reste comme un mode d'élimination des électrons dans un processus de quasi-fermentation, permet la réoxydation de NADH réduite (Senior et al., 1972). La biosynthèse des PHB à partir de l'acétate nécessite deux molécules d'ATP et une molécule de NADH pour produire tout d'abord l'Acétyl CoA avant de compléter le cheminement décrit par la figure 2.4. Pour les acides gras volatils présentant plus d'atomes de carbone, l'accumulation bactérienne des PHB à partir de ces AGV suit un processus d'oxydation anaérobique seulement si l'hydrogène est disponible comme accepteur d'électron (Stanier et al., 1986). Dans ce cas, il est proposé par Abu-Ghararah et al. (1989), que la bio-synthèse des PHB à partir de ces AGV est couplée avec la bio-synthèse de PHB à partir de l'acétate (figure 2.5).

La dégradation des PHB a lieu quand la concentration intracellulaire de  $\text{NAD}^+$  a augmenté et l'acétyl CoA a diminué.

La synthèse et la dégradation enzymatique des PHB dans les cultures microbiennes de boues activées mérite encore d'être étudiée d'avantages. Notons aussi que le  $\beta$ -hydroxybutyrate déhydrogenase, une enzyme impliquée dans la dégradation des PHB, a bien été extraite des souches d'*Acinetobacter* qui accumulent les polyphosphates. Les enzymes NADH et acétyl CoA sont inhibées par de fortes concentrations de substrat, suivant le même mécanisme de régulation

comme pour les autres espèces bactériennes (Lötter et al., 1989). Ces résultats suggèrent que la régulation des PHB décrite ci-avant est aussi valable pour les souches d' *Acinetobacter*.

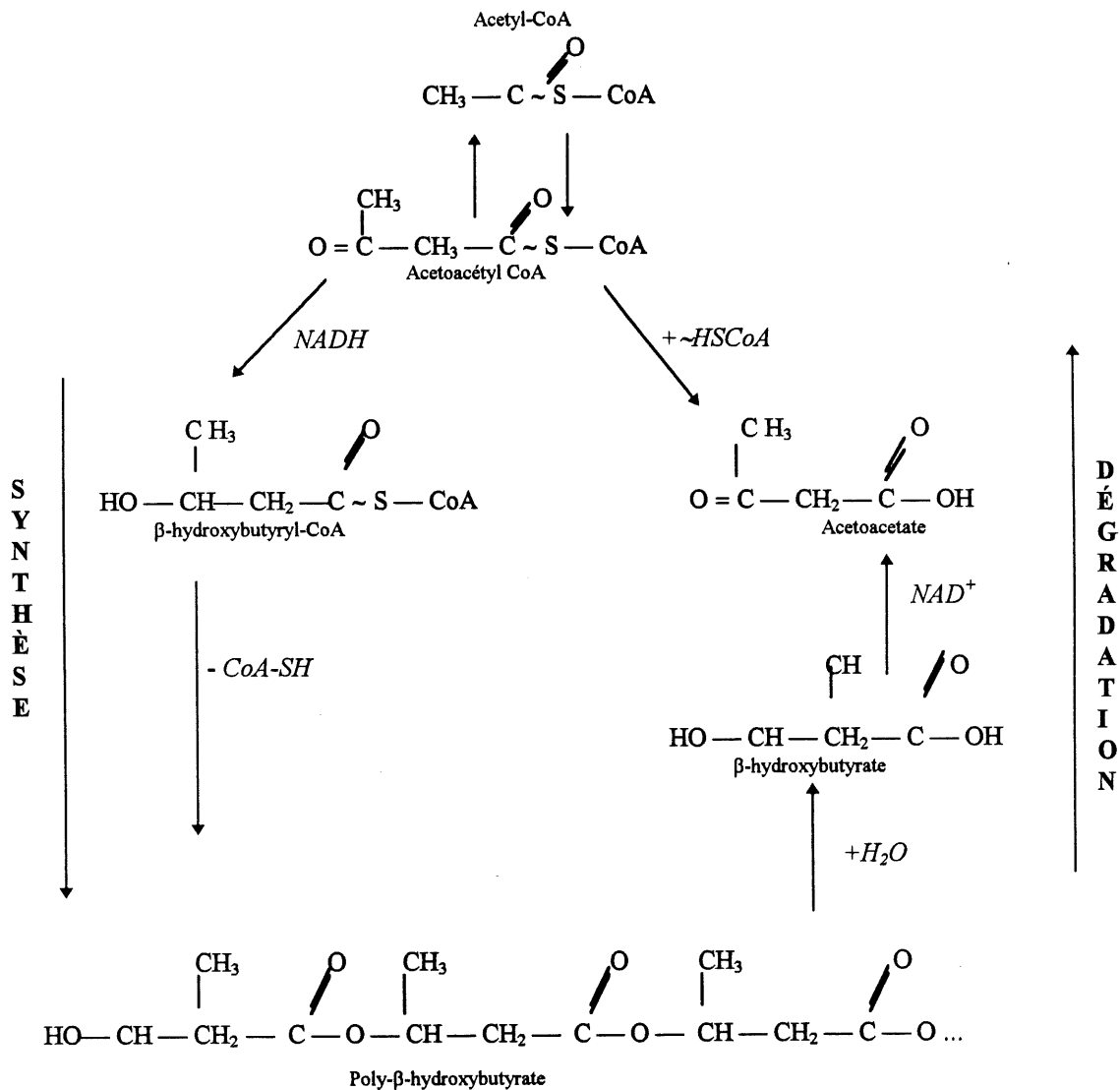


Fig. 2.4 Synthèse et dégradation des PHB.

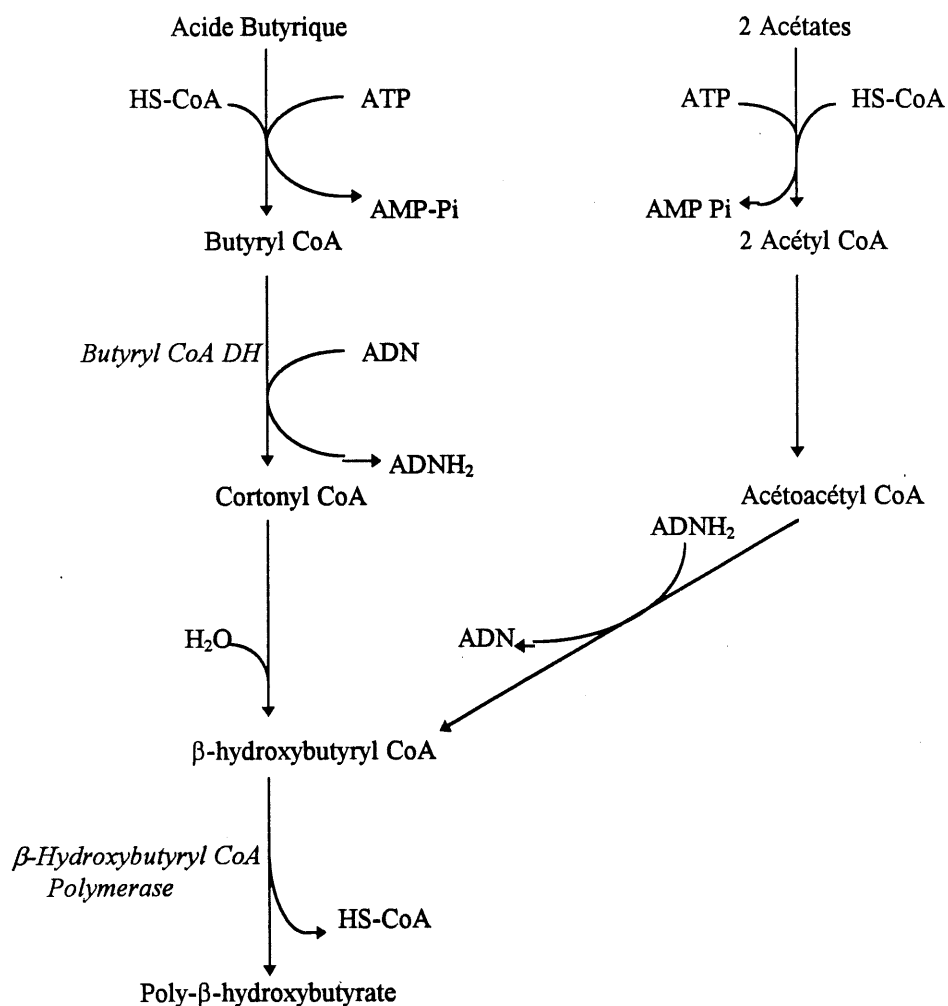


Fig. 2.5. Métabolisme anaérobie des AGV, pour former les PHB.

En plus des PHB, les micro-organismes peuvent métaboliser aussi les poly-β -hydroxyvalérates (PHV) qui sont des polymères à cinq carbones. Comeau et al. (1987) ont confirmé la présence des PHV en plus des PHB dans une boue déphosphatante. L'ensemble des polymères PHB et PHV avec d'autres copolymères susceptibles d'être stockés par la biomasse bio-P sous forme de réserves de carbone intracellulaire sont regroupés sous le nom de poly-β-hydroxyakanoates (PHA) (Comeau, 1990).

Le glycogène, est un polymère de glucose, peut aussi être synthétisé ou dégradé par les micro-organismes (Stanier et al., 1986).

Mino et al. (1987), en étudiant l'effet de l'accumulation du phosphore sur le métabolisme de l'acétate et d'autres composés du substrat alimentant un pilote d'EBP à l'échelle du laboratoire, ont remarqué une baisse de concentrations de carbohydrates en phase anaérobie, mais cette concentration augmente en phase aérobie. Ils ont expliqué ce phénomène par le stockage du glycogène par les bactéries bio-P en phase aérobie. Cependant Nicolls et al. (1979), avec un pilote de laboratoire traitant des eaux usées domestiques, n'ont pas pu détecté la présence du glycogène dans les micro-organismes. Cech et al. (1993), à l'aide d'un réacteur de laboratoire qui est alimenté par une eau usée synthétique à base de glucose et d'acide acétique, ont trouvé que la présence du glucose dans la composition du substrat favorise le développement de bactéries autres que les bactéries bio-P. Ces bactéries qui ne sont pas du type bio-P accumulent les polysaccharides au lieu des polyphosphates sous des conditions anaérobies. Ils ont trouvé que la prédominance de ce deuxième type de micro-organismes compromettrait l'EBP. Et selon leurs expériences les bactéries bio-P ne peuvent pas stocker le glycogène et les PHB sous des conditions anaérobies. Mais d'autres recherches ont montré que dans les systèmes avec une séquence anaérobie/aérobie, la biomasse peut accumuler les polyphosphates et les carbohydrates en phase anaérobie malgré la présence du glucose dans le substrat (Arun et al., 1988). Ces observations parfois contradictoires nous amènent à croire que la biomasse peut stocker les polyphosphates, les PHB et le glycogène sous des conditions bien spécifiques de la composition de l'affluent et cette biomasse peut ne pas posséder nécessairement la capacité d'accumuler les polyphosphates. Les proportions d'accumulation du glycogène bio-P et la cinétique biochimique mise en jeu doivent donc être étudiées d'avantages.

### 2.6.3. Mécanisme du transport du substrat à travers la membrane des bactéries bio-P

La membrane cytoplasmique des micro-organismes bio-P consiste en une double couche de phospholipides avec une faible perméabilité pour les ions. Le transport des nutriments à travers la membrane peut se faire de trois façons: la diffusion passive, la diffusion facilitée et le transport actif (Stanier et al., 1986). La diffusion passive ne requiert pas d'énergie, elle est le résultat d'une simple diffusion du substrat à travers la membrane pour que la cellule s'adapte à un gradient de concentration. L'eau, l'oxygène et l'ammoniaque sont les premiers nutriments qui



peuvent se diffuser passivement à travers la membrane. La diffusion facilitée est aussi indépendante de l'énergie métabolique de la cellule, et le substrat se déplace suivant un gradient de concentration. Cependant le taux de transport est beaucoup plus rapide dans ces conditions que lorsqu'il est réalisé par une diffusion passive. Les diffusions passive et facilitée peuvent seulement réaliser l'égalisation des concentrations de substrat à travers la membrane. Le transport actif se fait par catalysation et par certaines modifications chimiques du substrat avant de passer à travers la membrane. Il peut aussi être facilité par l'énergie provenant de la dégradation de polyphosphates en affectant le gradient de pH membranaire que la biomasse bio-P tend à maintenir constant, par diffusion du substrat à travers la membrane.

En se basant sur des hypothèses de transport de substrat à travers la membrane de la biomasse bio-P, différents modèles biochimiques ont été alors proposés.

#### 2.6.4. Modèle de Nicolls et al. (1979)

Nicolls et al. (1979) ont noté que l'introduction d'une zone anaérobie au début de la filière conventionnelle d'épuration est un pré-requis pour la prolifération des bactéries capables de stocker des polymères à forte énergie tel que les PHB et les poly-P. Ils ont supposé que sous des conditions anaérobies, les bactéries bio-P, utilisent le stockage des PHB comme un mécanisme de survie pour déposer l'hydrogène et des électrons à l'extérieur de la cellule. Le cheminement biochimique proposé sous les conditions anaérobies en considérant le glucose comme substrat principal, est montré sur la figure 2.6.

Les carbohydrates sont métabolisés par glycolyse sous forme d'Acétyl CoA avec production de protons et d'électrons. Dans la cellule bactérienne l'acétyl CoA va servir à remplir deux fonctions. La première est la production d'énergie par transformation de l'acétyl CoA en acétate. La deuxième est la fourniture d'une réserve d'un proton et d'un électron par la réduction de l'acétyl CoA en PHB. Ils supposent que le rôle des polyphosphates est de constituer la source en phosphore pour la formation de l'ATP à partir de l'ADP. Sous les conditions aérobies, les PHB initialement stockés sont utilisés comme source d'énergie pour la croissance de la bactérie, et

pour la génération du stockage des polyphosphates.

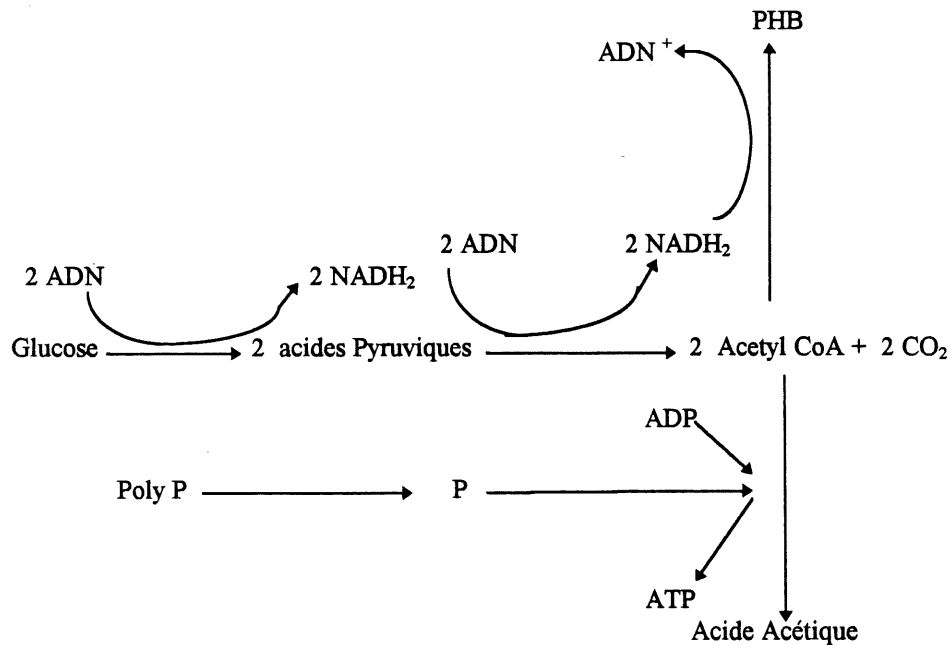


Fig. 2.6. Cheminement biochimique du stockage des PHB.

À ce niveau nous notons que le modèle que Nicolls et al. (1979) ont proposé, n'a pas expliqué les mécanismes suivants:

- L'effet positif des AGV sur l'enlèvement biologique du phosphore. En se basant sur leur modèle, nous remarquons que les AGV doivent être stockés dans le cytoplasme des bactéries bio-P, comme des produits définitifs de l'hydrolyse de l'acétyl CoA, et éventuellement ces AGV doivent être relargués dans le milieu par diffusion à travers la membrane cellulaire. Ces observations contredisent le fait que les AGV sont utilisés par les bactéries bio-P sous les conditions anaérobies (section 2.3).
- Plusieurs recherches ont rapporté que sous des conditions anaérobies le rôle principal des polyphosphates est de servir comme une source d'énergie, mais pas comme une source de phosphore (section 2.3).

- Senior et al. (1972) ont observé que les micro-organismes aérobies n'ont pas été capables de métaboliser les sucres sous des conditions d'anaérobiose, ce qui est dû à l'accumulation de NADH et NADPH qui agissent comme des agents d'inhibition pour le catabolisme des sucres. En plus, également quand les bactéries peuvent utiliser le stockage des PHB comme une réserve d'électrons, le taux de production de NADH est quatre fois plus important que le taux de leur réoxydation en  $\text{NAD}^+$ .

#### 2.6.5. Modèle de Rensink (1981)

Fuhs et al. (1975) ont mis en évidence le fait que les micro-organismes genre *Acinetobacter* constituent la biomasse principale effectuant l'enlèvement du phosphore et que les AGV constituent leur principal substrat. Se basant sur ces faits, Rensink (1981), a proposé un modèle biochimique conceptuel de l'EBP intégrant quelques mécanismes décrits par le modèle de Nicolls et al. (1979).

En phase anaérobie, le modèle de Rensink suggère que: les AGV tel que l'acétate servent comme substrat à l'*Acinetobacter* qui les stocke sous forme de PHB en utilisant l'énergie provenant de l'ATP. L'énergie requise est fournie par l'hydrolyse de polyphosphates en phosphore inorganique libre qui est relargué dans la boue activée. En phase aérobie, Rensink retient les mêmes mécanismes suggérés par Nicolls et al. (1979).

La comparaison du modèle de Nicolls et al. (1979) et celui de Rensink (1981) permet de retenir quelques remarques:

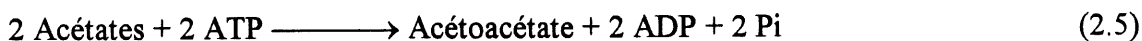
- Les substrats utilisés pour les micro-organismes sont différents: les AGV constituaient le principal substrat de l'*Acinetobacter* dans le modèle de Rensink (1981). Cependant, dans le modèle de Nicolls et al. (1979) c'est le glucose qui est utilisé.
- Les polyphosphates constituent une source de phosphore dans le modèle de Nicolls et

al. (1979), mais ce sont une source d'énergie dans le modèle de Rensink (1981).

- Les PHB, dans le modèle de Rensink (1981), sont stockés sous forme de réserves de carbone par l'*Acinetobacter* en phase anaérobie. Tandis que Nicolls et al. (1979) les considèrent comme réserves de protons et d'électrons stockés par les micro-organismes bio-P en phase de stress anaérobie.

#### 2.6.6. Modèle de Marais et al. (1983)

Marais et al. (1983) ont démontré que la quantité de phosphore enlevée en surplus est proportionnelle à la quantité de DCO facilement biodégradable dans l'eau usée. Ils ont développé un modèle biochimique de l'enlèvement du phosphore et l'ont appliqué à deux types de substrats qui représentaient une majeure partie de DCO facilement biodégradable: acide gras volatil de courte chaîne (acétate), et des carbohydrates (glucose). Ils ont supposé que sous des conditions anaérobies, les bactéries bio-P dégradent les polyphosphates suivant la réaction inverse à l'équation 2.1, produisant ainsi l'énergie qui va être utilisée pour le transport des nutriments dans le cytoplasme et le stockage de substrats tels que les PHB et/ou l'acéto-acétate. Avec l'acétate comme substrat, ils proposaient le cheminement biochimique de l'équation 2.5.



Ils ont supposé que l'acétate est stocké comme acétoacétate par les bactéries bio-P, car pour sa future conversion en PHB, il n'y a pas de source de protons et d'électrons qui apparaît disponible. Avec le glucose comme substrat, en supposant que les bactéries bio-P dégradent le glucose via le cheminement d'Embden-Meyerhof ils proposaient la réaction (2.6) suivante:



Ils proposaient aussi que la  $\text{NADH}_2$  produite peut être utilisée pour la conversion de l'acétate, produit par les bactéries anaérobies facultatives en PHB. Ils supposaient que sous des conditions anaérobies le métabolisme des sucres par les bactéries bio-P est couplé au stockage de l'acétate comme PHB. Sous les conditions aérobies, ils proposaient que les PHB sont oxydés en

produisant l'énergie en excès requise au métabolisme et résultant d'un rapport important ATP/ADP. L'importance de la valeur de ATP/ADP, active l'enzyme polyphosphate Kinase qui catalyse la bio-synthèse des poly-P.

Certaines observations ne concordent pas avec le modèle de Marais et al. (1983). C'est le cas de Juni (1978) qui a rapporté que l'*Acinetobacter* Spp. ne peut pas posséder de cheminement d'Embden-Meyerhof. Alors ces bactéries ne peuvent pas utiliser, sous les conditions anaérobies, les carbohydrates grâce à ce cheminement biochimique. En plus, l'accumulation de l'acétate sous forme d'acétoacétate est un processus douteux car l'acétoacétate n'est pas un composé osmotiquement inerte, et il peut se diffuser à l'extérieur de la cellule à de fortes concentrations.

#### 2.6.7. Modèles de Comeau / Wentzel (1986)

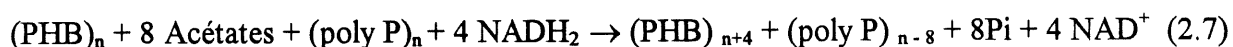
Comeau et al. (1986) ont proposé un autre modèle biochimique pour expliquer l'enlèvement biochimique du phosphore. Ce modèle a été amélioré dans une large mesure par Wentzel et al. (1986). Ce modèle a été développé en utilisant l'acétate comme substrat et en supposant que les seuls micro-organismes responsables de l'enlèvement biologique total du phosphore sont de genre *Acinetobacter*.

Comeau et al. (1986) et Wentzel et al. (1986) avaient proposé que le mécanisme d'EBP est régularisé par les ratios intracellulaires NADH/ADN et ATP/ADP. Sous les conditions anaérobies, le cycle TCA est inopéré et pour les bactéries aérobies les ratios ATP/ADP et NADH/ADN croissent, cela est dû à l'absence d'un accepteur d'électrons. Comme résultat d'un faible rapport intracellulaire ATP/ADP, l'enzyme polyphosphate kinase est activée pour catalyser la dégradation des polyphosphates et la production de l'énergie nécessaire à l'utilisation de l'acétate et son stockage sous forme de PHB. Ils proposaient alors, les cheminements biochimiques, sous des conditions anaérobies, qui sont montrés sur la figure 2.7.

Ils supposaient que l'acétate se diffuse dans la cellule bactérienne sous forme protonière et se dissocie dans le cytoplasme aux dépens du gradient de pH à travers la membrane cellulaire. Pour

maintenir le pH cytoplasmique et la force de mobilité du proton, ils proposaient que les protons sont expulsés de la cellule via une enzyme de type ATP-ase en utilisant l'énergie de la dégradation des polyphosphates et en relargant du phosphore dans la liqueur mixte. Ils avaient observé le relargage des cations  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$  (section 2.4), simultanément avec le relargage du phosphore, qui servent à compenser le mouvement intérieur des anions dans la cellule. Ces mécanismes de transport ont bien été rapporté par Harold et al. (1974 et 1975) pour l'utilisation de l'acide lactique et les phosphates par *Streptococcus faecalis*.

L'originalité considérée par ces auteurs est que l'ATP est générée directement par le transfert d'une forte énergie de phosphorylation des polyphosphates avec l'ADP, ce qui représente l'inverse de l'équation biochimique 2.1. Cette réaction est catalysée par l'enzyme polyphosphate kinase. Cependant, la discussion déjà exposée à la section 2.6.1 a mis en évidence que la génération de l'ATP à partir des polyphosphates se fait en deux étapes catalysées par les enzymes polyphosphate AMP phosphotransferase et l'adenylate kinase. Dans les deux cas le résultat net obtenu est le suivant: une décroissance des polyphosphates intracellulaires et la génération de l'ATP. La réaction globale qui résulte du stockage de PHB et du relargage du phosphore dans le milieu, sous des conditions d'anaérobiose, est donnée par l'équation 2.7 suivante:



Ils suggéraient qu'une portion de l'acétate est oxydé via le cycle TCA pour produire la  $\text{NADH}_2$  requise, selon l'équation 2.8.



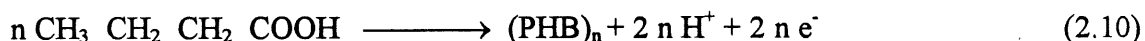
En combinant les équations (2.7) et (2.8), on obtient la réaction globale 2.9 suivante:



Basés sur l'équation (2.9), nous voyons que théoriquement le ratio molaire du phosphore relargué par rapport à l'acétate utilisé est de 1:1. Cependant, il a été rapporté par Comeau et al.

(1987), que l'énergie requise pour le transport de l'acétate à l'intérieur de la cellule doit être aussi produite par l'hydrolyse des polyphosphates. Ainsi, en supposant qu'une mole d'ATP est requise pour deux moles d'acétate transportées dans la cellule, le ratio molaire du phosphore relargué par rapport à l'acétate utilisé augmente à 1.5: 1.

Comeau et al. (1987) ont investigué le cheminement métabolique du stockage du carbone d'un différent nombre d'acides gras à courte chaîne (AGV) sous les conditions d'anaérobiose. Ils ont rapporté que ces AGV ne se transforment pas uniquement en PHB mais aussi en PHV pour être stockés dans la bactérie. La conversion de l'acide propionique, butyrique et valérique en PHB n'est pas un processus de réduction mais il en est un d'oxydation. Par exemple, pour l'acide butyrique la transformation a lieu suivant la réaction (2.10) suivante (Stanier et al., 1986):

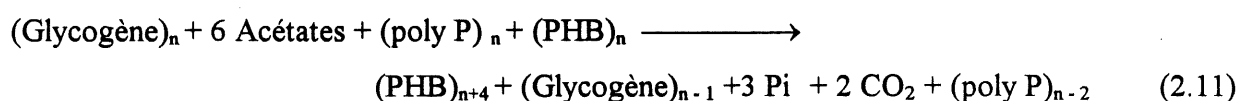


Abu-Ghararah et al. (1989) ont suggéré que le métabolisme important des AGV est couplé avec l'acide acétique. Ils supposaient que les AGV contenant un nombre plus grand d'atomes de carbone comme le propionate et le valérate peuvent être stockés sous forme de PHV quand l'acétate est présent. Dans ce cas, le stockage des AGV est couplé avec le stockage de l'acétate comme des PHB. Ces observations sont en concordance avec celles de Comeau et al. (1987), qui ont rapporté que les taux d'utilisation des AGV sont beaucoup plus grands quand l'acide propionique et acétique sont ajoutés en même temps dans une culture d'*Acinetobacter*, que s'ils sont ajoutés séparément. En plus, ils ont rapporté que les AGV contenant un grand nombre d'atomes de carbone favorisent le stockage des PHV, alors que les AGV avec un petit nombre d'atomes de carbone favorisent l'accumulation des PHB.

#### 2.6.8. Modèle de Mino et al. (1987)

Mino et al. (1987) ont proposé un modèle similaire à celui de Comeau/Wentzel, pour expliquer le mécanisme d'utilisation de l'acétate et du relargage du phosphore sous les conditions d'anaérobiose. Ils ont observé une décroissance significative des réserves intracellulaires des carbohydrates sous les conditions d'anaérobiose. Pour expliquer ces observations, ils

proposaient que la réduction de la puissance requise au stockage des PHB est alimentée par la consommation des réserves en glycogène. Selon ce modèle, les bactéries bio-P suivent le cheminement d'Embden-Meyerhof, pour pouvoir convertir le glycogène en acétyl CoA avec une réduction concomitante de  $\text{NAD}^+$ . En se basant sur leur modèle, nous remarquons que le stockage des PHB est couplé avec la consommation du glycogène. La réaction biochimique globale qui a lieu est la réaction (2.11). Le ratio molaire du phosphore relargué par l'acétate utilisé est dans ce cas égal à 0.5 : 1.



Sous les conditions aérobies, le modèle de Mino et al (1987), celui de Comeau et al. (1986) et celui de Wentzel et al. (1986), proposent que les bactéries bio-P génèrent leur énergie via le cycle de l'acide tétracyclique (TCA) en utilisant les PHB comme source de carbone et l'oxygène comme un accepteur d'élection. En conséquence il y a augmentation du rapport ATP/ADP. Dans ces conditions, les bactéries bio-P peuvent utiliser le phosphore et des cations présents dans la liqueur mixte pour reconstruire leurs réserves en polyphosphates. En plus Mino et al. (1987) ont proposé que les PHB sont aussi utilisés pour synthétiser les réserves en glycogène.

Plusieurs observations contredisent le modèle de Mino et al. (1987). Bordacs et al. (1989) ont rapporté un changement non significatif dans les concentrations en glycogène des bactéries bio-P dans un système d'EBP, lors des phases anaérobie et aérobie. De la même manière Nicolls et al. (1979) ont observé qu'il n'y avait pas d'accumulation de glycogène dans l'*Acinetobacter* spp d'un système d'EBP. En plus, Juni (1978) a rapporté que l'*Acinetobacter* ne possède pas le cheminement d'Embden-Meyerhof pour dégrader le glycogène sous des conditions anaérobies. Les nitrates n'ont pas pu être dégradées durant leurs expériences de laboratoire et l'utilisation des carbohydrates pour la dénitrification peut bien être la cause de la décroissance observée dans la réserve de carbohydrates. Ainsi, à moins qu'il y avait plusieurs types de micro-organismes impliqués dans l'EBP, il est prévu que le cycle TCA est la source prédominante pour la réduction de l'énergie durant le stockage de PHB.



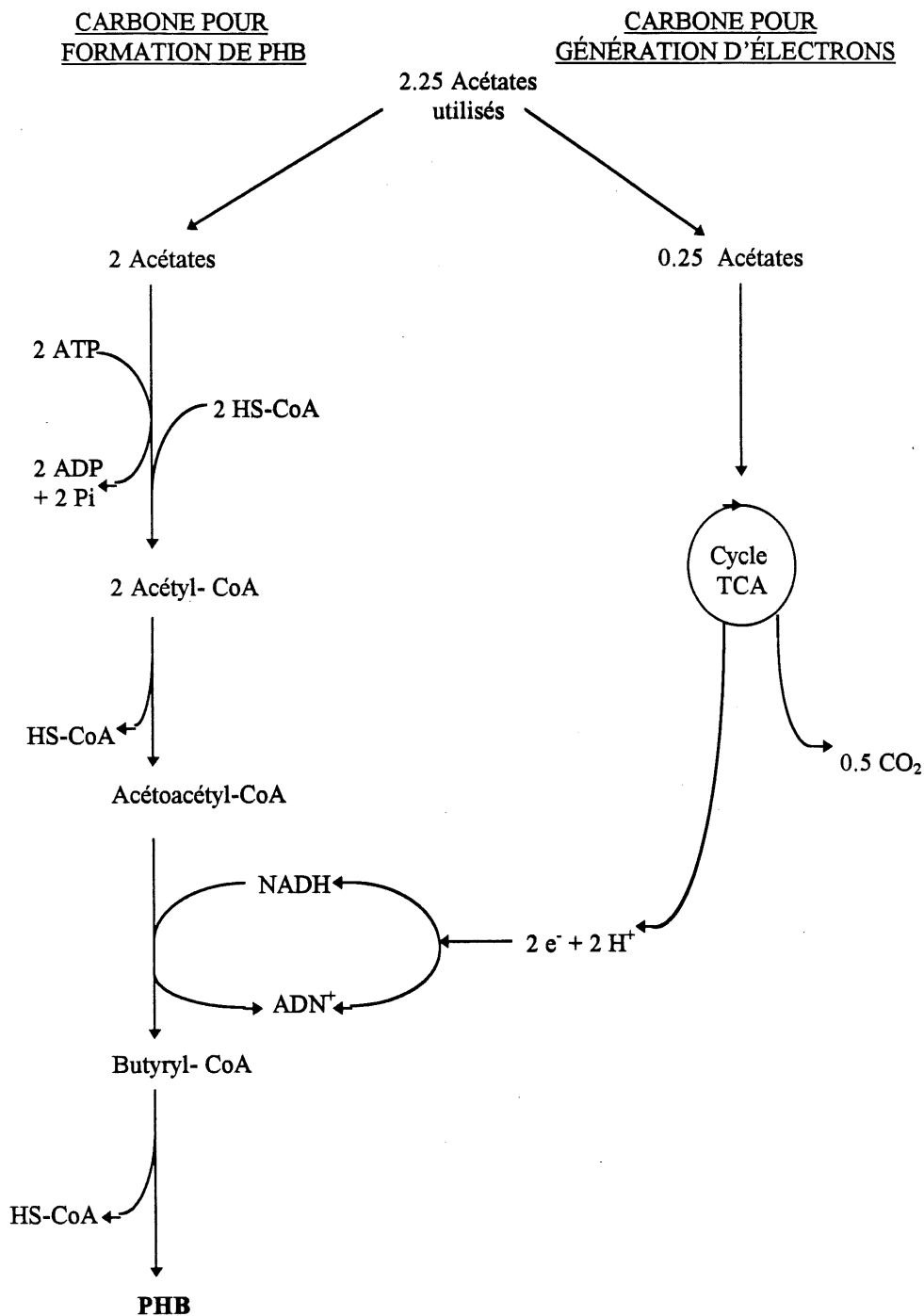


Fig. 2.7. Cheminements biochimiques pour le stockage des PHB sous les conditions anaérobies (Wentzel et al., 1986).

#### 2.6.9. Modèle de Mino adapté par Wentzel et al. (1991)

Wentzel et al. (1991), se basant sur le modèle de Mino et al. (1987), ont établi un modèle décrivant les processus qui n'étaient pas bien expliqués par Mino et al. (1987). Ainsi le mécanisme de régénération des carbohydrates à partir des PHB a été décrit. Ils proposaient que le  $\text{NADH}_2$  requis pour la synthèse des PHB est fourni via le cheminement d'Entner-Doudoroff (ED), au lieu du cheminement de l'acide tétracyclique (TCA) soutenu par Comeau/Wentzel (1986) ou au lieu du cheminement Embden-Meyerhof (EM) proposé par Mino et al. (1987).

#### 2.6.10. Synthèse sur l'utilisation de ces modèles

Il est clair que les modèles proposés depuis 1986 reproduisent mieux les différents mécanismes mis en jeu lors du métabolisme bactérien lors de l'EBP. Cependant le rôle du glycogène dans l'EBP n'a pas encore reçu le consensus de tous les chercheurs. Toutefois, en comparant les processus proposés par ces modèles, on peut dégager les points suivants:

- Les *Acinetobacter* sont les principaux micro-organismes responsables de l'enlèvement du phosphore des eaux usées dans un système de déphosphatation biologique contenant l'acétate comme substrat. Le modèle proposé par Wentzel et al. (1991) décrit les mécanismes mis en jeu, tel que l'accumulation des polyphosphates et des PHB par les micro-organismes.
- D'autres bactéries genre *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Klebsiella* et bien d'autres, peuvent suivre d'autres mécanismes pour l'enlèvement biologique du phosphore. Par exemple les *Pseudomonas* accumulent les polyphosphates, les PHB et des carbohydrates en utilisant comme source de carbone l'acétate. Leur comportement est pris en compte par le modèle de Mino et al. (1987) et le modèle de Mino adapté par Wentzel et al. (1991).
- Le glucose peut être aussi utilisé par les micro-organismes comme source de carbone. Le processus biochimique du métabolisme bactérien dans ces conditions est décrit par Tracy et al.

(1987). Les bactéries effectuant l'enlèvement biologique du phosphore en présence du glucose accumulent les polyphosphates et le glycogène en faible quantité.

- Généralement, «l'applicabilité» d'un modèle est mesurée par le taux du phosphore enlevé ou relargué par rapport au substrat consommé (Doria serrano et al., 1992). Cependant le type de transport du substrat à travers la membrane bactérienne doit être d'abord connu car un transport membranaire actif implique un relargage beaucoup plus important que le relargage engendré par un transport par diffusion.

#### 2.6.11. Cinétiques de relargage et d'utilisation du phosphore dans un système d'EBP

Les discussions que nous venons de relater, indiquent que l'ampleur de l'EBP est directement proportionnelle à la quantité de la DCO facilement biodégradable dans l'affluent. Marais et al. (1983) ont proposé que la DCO facilement biodégradable consiste en deux parties: d'abord les acides gras volatils de courte chaîne (AGV) comme l'acétate qui peut être directement utilisé dans sa forme originale par les bactéries bio-P et stocké sous forme de PHB, puis les autres substrats qui vont être convertis par les bactéries non bio-P anaérobies facultatives via le cheminement glycolique (Embden-Meyerhof) en AGV qui vont être utilisés par les bio-P. Wentzel et al. (1985) ont rapporté que le profil de la concentration du phosphore relargué pendant une période d'anaérobiose, dépend du type du substrat. Les auteurs ont conduit des essais en batch avec des boues provenant d'un système d'EBP avec l'acétate, le glucose, ou les eaux usées municipales comme substrat. Avec l'acétate, ils ont obtenu un profil de relargage du phosphore se composant de deux parties. Dans la première partie, le phosphore relargué est proportionnel à l'acétate utilisé avec une réaction d'ordre zéro. Dans une seconde région, la quantité du phosphore relargué est très faible, ce qui est dû à la perte de la masse endogène et son indépendance de la concentration en acétate. Avec les eaux usées municipales, ou avec le glucose comme substrat, ils ont rapporté que le taux de l'utilisation de la DCO par les bactéries bio-P est déterminé par le taux de conversion de la DCO facilement biodégradable en AGV par les bactéries facultatives anaérobies.

Les résultats des essais en batch réalisés par Wentzel et al. (1988) et Fukase et al. (1982) ont montré que le relargage du phosphore sous des conditions anaérobies suit une réaction du premier ordre. Wentzel et al. (1985) ont rapporté que le phosphore utilisé sous des conditions

d'aérobie est proportionnel au phosphore relargué sous des conditions d'anaérobie (figure 2.8) et subséquemment à la DCO facilement biodégradable.

Wentzel et al. (1989a) ont réalisé des essais en batch pour étudier le relargage et l'utilisation du phosphore avec des cultures bio-P. Durant la phase aérobie, le taux d'utilisation d'oxygène (TUO) et la concentration en phosphore de la solution ont été mesurés et ont été trouvés suivre la cinétique de Monod. Initialement, la concentration d'utilisation du phosphore est linéaire en fonction du temps, mais comme le TUO commence à décroître indiquant l'épuisement des substrats intracellulaires (PHB), l'évolution de l'enlèvement du phosphore suit une réaction du premier ordre.

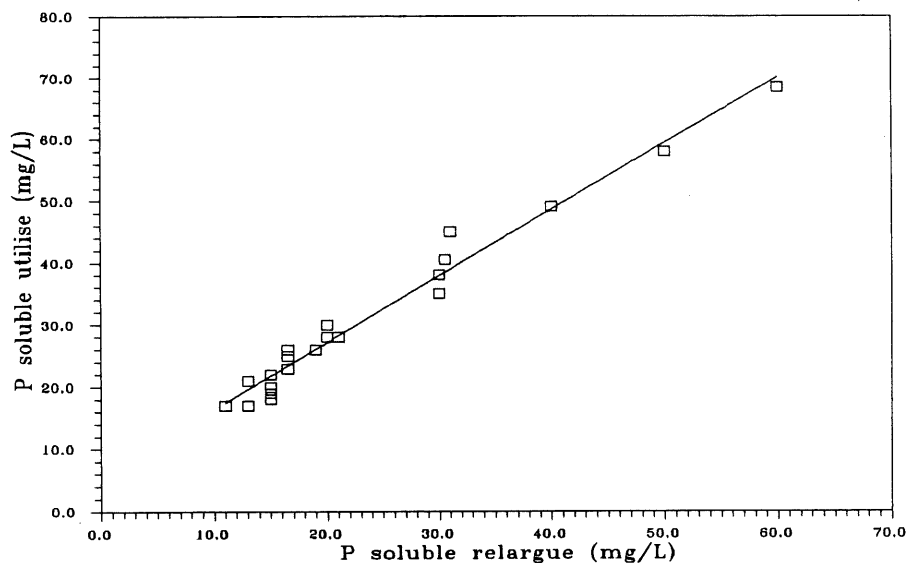


Figure. 2.8. P utilisé versus P relargué (Wentzel et al., 1988)

## 2.7. Facteurs influençant l'EBP dans les eaux usées

À travers l'étude du fonctionnement biochimique de l'enlèvement du phosphore des eaux usées, il se dégage que l'élément moteur du procédé est constitué par l'ensemble des micro-organismes bio-P. On doit fournir à ces micro-organismes des conditions de vie favorables à leur croissance et à leur multiplication.

Ainsi plusieurs facteurs peuvent influencer le comportement de ces micro-organismes, ce qui se traduira par une perturbation de la performance d'un procédé de déphosphatation biologique. Ces facteurs sont : configuration du procédé, matière organique, nitrate, oxygène dissous, macro- et micro-nutriments (K, Mg, Ca), température, âge des boues, toxiques, ...

#### 2.7.1 Configuration du procédé

Il a été signalé précédemment qu'un agencement adéquat des bassins anaérobie - aérobie permet d'avoir un enlèvement biologique du phosphore. La zone anaérobie en tête du système permet d'avoir un stockage maximum de la matière organique sous forme de PHB. Fukase et al. (1985), à l'aide d'un pilote de laboratoire avec zone anaérobie en tête du procédé suivie de la zone aérobie et opéré avec une eau usée synthétique, ont obtenu une boue contenant 10 % de phosphore par poids sec.

Gerber et al. (1984), en investigant l'effet d'un long temps d'anaérobiose sur la performance de l'EBP, ont trouvé que globalement une durée d'anaérobiose prolongée a un effet bénéfique : la dénitrification est efficace, l'enlèvement de la DCO et des MES n'est pas affecté, les caractéristiques des boues demeurent inchangées, et les filamenteuses n'ont pas été observées dans le système. Malgré ces effets bénéfiques, ils ont recommandé un temps typique de rétention en stage anaérobie de 0.5 à 3 heures. Cependant, Barnard (1984) a rapporté qu'un long temps de rétention hydraulique dans la zone anaérobie a un effet négatif sur l'EBP car les bactéries bio-P peuvent hydrolyser les polyphosphates pour fournir l'énergie de maintenance aux cellules sans stocker de matière organique. Wentzel et al. (1985) ont rapporté que la non conversion de la matière organique en AGV, limite l'utilisation de cette matière organique par les bactéries bio-P.

Dans la littérature, il n'y a pas de données disponibles sur les taux de fermentation des eaux usées, car les AGV sont consommés par les bactéries bio-P aussitôt qu'ils sont produits; alors les taux de relargage du phosphore et de dégradation de la DCO, varient dépendamment de charge de l'affluent et de sa composition, de la configuration du système, du contenu en polyphosphates des boues et de l'activité des bactéries anaérobies facultatives et des bactéries bio-P (Tableau 2.7). Tétreault et al. (1986), The Soap & Detergent Association, (1989) et Paepcke (1983) ont suggéré que la zone anaérobie est usuellement conçue pour un temps de rétention hydraulique autour de 1 à 2 heures, des valeurs qui ont montré leur efficacité d'EBP empiriquement.

La zone aérobie a la fonction de compléter l'oxydation de la matière organique, de permettre l'enlèvement du phosphore, et si c'est requis de nitrifier. Le taux d'utilisation du phosphore décroît suivant le temps d'aérobiose. Les valeurs moyennes de ce taux sont de 10 à 20 mg P/g MVS.h pour la première heure d'aération (Gerber et al., 1987; Ekama et al., 1986). Gerber et al. (1987) et Ekama et al. (1986) ont aussi recommandé de maintenir le niveau d'oxygène dissous entre 1.5 et 3 mg/L pour un système à débit continu d'EBP. D'autres chercheurs ont suggéré de maintenir une concentration en oxygène dissous de 2 à 6 mg/L pour réussir un EBP en général (Raper, 1983; Malnou et al., 1984).

#### 2.7.2. Nature et composition du substrat

En se basant sur les mécanismes décrits dans la section 2.6, nous remarquons que l'augmentation de la quantité de substrat disponible pour les bactéries bio-P a un effet positif sur l'EBP, car cela favorise la croissance d'un grand nombre de micro-organismes qui accumulent les polyphosphates, ainsi le contenu global en phosphore de la biomasse s'accroît.

Pour quantifier la portion du substrat dans les eaux usées disponible à l'utilisation directe par les bactéries bio-P, Siebritz et al. (1983) ont proposé d'utiliser le terme de « DCO facilement biodégradable » pour évaluer la portion du substrat dans l'eau usée qui est métabolisé pendant quelques minutes quand elle est en contact avec la biomasse. La DCO facilement biodégradable consiste en simples composés organiques tel que l'AGV et les carbohydrates qui peuvent passer directement à travers la membrane cellulaire sans aucune hydrolyse extra-cellulaire en petites molécules. Ils ont proposé que la DCO facilement biodégradable est un indicateur fiable de la quantité des AGV qui peuvent être potentiellement produits par fermentation et peut être corrélé à la quantité du substrat disponible aux bactéries bio-P.

Siebritz et al. (1983) ont suggéré que pour induire facilement l'enlèvement biologique du phosphore dans un procédé de boues activées, un minimum de 25 mg/L de DCO facilement biodégradable (excluant le substrat requis pour la dénitrification) doit être disponible aux micro-organismes dans la zone anaérobie du procédé. Cette approche a été considérée par la suite

pour la conception de procédés de déphosphatation biologique et l'évaluation de cinétiques mises en jeu (Dold et al., 1986; Wentzel et al., 1987 et 1991; Dold, 1991).

Tableau 2.7. Taux de relargage du phosphore et de dégradation de la DCO dans des systèmes d'EBP.

Type d'affluent (Conc. en AGV )	Système (Contenu en P des boues mg P/mgMVS)	Taux de relargage du phosphore mg P/g MVS. h	Taux dégradation de DCO mgDCO/gMVS.h	Références
Acétate (500 mg H. ac./L)	batch (6.30%)	10.9	ND	Mino et al. (1987)
Eau usée synthétique (0 mg DCO/L)	A/O pilote de laboratoire (2.50%)	3.3	ND	Wanner et al. (1990)
Effluent primaire (15 mg DCO/L)	Bardenpho pilote à grande échelle (4.79%)	10.6	11	Pitman et al. (1983)
Acétate+ propionate (30 mg DCO/L)	batch (3.50%)	20	30	Comeau et al. (1987)
Acétate ou propionate (30 mg DCO/L)	batch (3.30%)	13	30	Comeau et al. (1987)
Eau usée fermentée (30 mg DCO/L)	batch, culture d'un système d'EBP (3.20%)	10	15	Comeau et al. (1987)
Acétate (500 mg DCO/L)	batch, culture d'un système d'EBP (11.0%)	135	210	Wentzel et al. (1988)
Glucose (40 mg DCO/L)	batch (3.10%)	14	ND	Fukase et al. (1982)
Acétate (50 mg DCO/L)	batch (3.40%)	17	ND	Fukase et al. (1982)

Différents composés tels que : formiate, acétate, propionate, butyrate, hydroxybutyrate, glucose, ribose, glycérol, acide éthylènediamine tétracétique (EDTA), ont été utilisés comme substrats, dans un pilote de laboratoire par Potgieter et al. (1983) pour tester la performance de l'EBP. Ils ont trouvé que seuls l'acétate et le propionate donnaient des concentrations de

relargage du phosphore, en phase anaérobie, dépassant 50 mg/L de  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ , avec un enlèvement du phosphore atteignant une efficacité de 95 % dans l'effluent.

Winter (1989) a étudié le rôle de l'acétate dans un système d'EBP à trois stages : anaérobie - anoxie - aérobie. Un accroissement des concentrations d'acétate de sodium ajouté, a entraîné un enlèvement du phosphore deux fois supérieur à celui obtenu quand aucune concentration d'acétate n'est utilisée. Une concentration maximale de 200 mg/L donnait une efficacité d'enlèvement du phosphore de 94.6 %, mais le phénomène de feutrage des boues <<bulking>> a été constaté avec ces concentrations élevées.

Chiesa et al. (1987) ont étudié l'effet de la variation de la charge organique de l'affluent sur la performance d'un système d'EBP réalisé dans un réacteur biologique séquentiel de laboratoire. En présence d'un taux de charge organique moindre accompagné d'un taux de charge en phosphore élevé dans l'affluent, ils ont détecté une diminution de l'efficacité du procédé. Ainsi, dans ces conditions, on a observé des concentrations en phosphore dans l'effluent excédant 1 mg/L environ 35 % du temps.

Dans un pilote de laboratoire formé d'une zone anoxie suivie de plusieurs zones aérobies, Jones et al. (1987) ont étudié l'effet de l'addition du substrat sur l'enlèvement du phosphore. Les substrats utilisés sont : l'acétate de sodium, l'acide acétique, l'acide butyrique, l'éthanol et le méthanol. Le maximum de relargage du phosphore a été obtenu avec l'acide butyrique et le minimum avec l'acétate. Les concentrations en phosphore mesurées après la zone anoxie (après relargage du phosphore) sont supérieures aux concentrations initialement présentes dans l'affluent selon des pourcentages de 250 % avec l'acide butyrique et 135 % avec l'acétate. Ceci ne concorde pas avec les conclusions de Potgieter et al. (1983), de Comeau et al. (1987), et de Winter (1989) qui ont trouvé que l'acétate offre plus de relargage par rapport aux autres AGV. Mais cela peut être dû à l'influence de nitrates présents dans la zone anoxie utilisée dans les expériences de Jones et al. (1987), au lieu d'une zone anaérobie en tête du procédé ce qui suppose que les bactéries dénitrifiantes compétitionnent confortablement avec les bactéries bio-P en présence de l'acétate.



Somiya et al. (1988) ont examiné l'influence du glucose, de l'acétate de sodium et de polypeptone, comme substrats, sur le comportement de la biomasse bio-P. Ils ont trouvé un accroissement des carbohydrates intracellulaires quand la présence du glucose est assurée dans la zone anaérobie. Cependant, le changement du rapport F/M (« food to microorganisms ») n'influence pas beaucoup le relargage du phosphore en zone anaérobie, puisqu'avec des rapports F/M variant au-delà de 0.04 mg COT/mg MES, la concentration en phosphore relargué durant un cycle anaérobie de 8 heures reste presque stationnaire autour d'une valeur. Les concentrations de PHB obtenues pour le cas où le glucose est utilisé comme seule source de carbone ne présentent qu'une très légère augmentation au cours de la phase anaérobie. Ceci contredit les observations de Arun et al. (1988) qui ont suggéré qu'en présence du glucose, le glycogène, un polymère du glucose, sert au stockage de PHB pour les bactéries bio-P sous les conditions anaérobies. Mais la caractérisation de la présence du glycogène dans les expériences menées par Somiya et al. (1988) n'a pas été entamée. Ce qui laisse supposer qu'un triple stockage de polyphosphates, de PHB, et du glycogène par les bactéries bio-P est possible.

Dans une configuration de système d'EBP comprenant des zones anaérobies suivies de zones aérobies, des substrats particuliers peuvent causer le phénomène de feutrage de boues. Cela a été investigué par Wanner et al. (1990) en considérant comme source de carbone, dans le substrat utilisé, le glucose, l'éthanol, l'acide acétique et des fractions particulières composées d'un mélange de peptone et d'oeufs durs. Ils ont confirmé que la fraction du substrat particulière est métabolisée avec un taux d'utilisation faible par les micro-organismes bio-P. Ceci induit un transfert de quantités importantes non métabolisées de matière organique sous forme de floes dans la zone aérobie, causant par la suite le phénomène de gonflement ou de feutrage des boues. Ces substrats particuliers constituent la DCO non biodégradable qui est issue du processus de respiration endogène des micro-organismes bio-P. Des hypothèses ont été émises par Ekama et al. (1986) et soutenues par Wentzel et al. (1989a) en considérant que les résidus de la DCO non biodégradable pourraient servir de substrat aux organismes non bio-P dans des systèmes hétérotrophes mixtes. Malgré que ce phénomène soit vraisemblable, Dold (1991) l'a inclus dans son modèle généralisé de boues activées. Les simulations qu'il a réalisées l'ont amené à suggérer que les phénomènes interactifs qui ont lieu lors de l'enlèvement biologique du phosphore doivent être bien étudiés, afin de donner une explication à cette DCO non biodégradable pouvant

causer le gonflement de boues dans la zone aérobie du système.

Yoon et al. (1990) ont utilisé un réacteur biologique séquentiel pour étudier les cinétiques de l'EBP sous conditions anaérobie et aérobie. Leurs expériences de laboratoire ont montré qu'un modèle de type Monod décrit bien les cinétiques de relargage du phosphore au cours de la respiration endogène de la biomasse. La quantité de phosphore enlevée au cours de l'aérobiose est corrélée avec celle relarguée pendant l'anaérobiose. Ils ont remarqué aussi que le relargage et l'enlèvement du phosphore sont affectés par le phosphore contenu dans la biomasse quand la concentration initiale en phosphore de l'affluent change et en maintenant le substrat organique (glucose et polypeptone) inchangé. Ils ont suggéré que le rapport P/DBO doit être supérieur à 0.01 pour accroître le contenu en phosphore dans la biomasse. Dans leur étude, un changement simultané des concentrations de l'affluent en DBO et en nutriments n'a pas été rapporté.

Dans un système à débit continu, Abu-Ghararah et al. (1991) ont étudié l'effet des composés organiques sur l'EBP par ajout séparé des acides: formique, acétique, propionique, butyrique, isobutyrique, valérique et isovalérique dans l'eau usée domestique utilisée pour les expériences. Les différents AGV utilisés causent différents types de relargage et d'EBP. Ainsi le rapport de phosphore enlevé par rapport à la DCO utilisée varie de 0.10 à 0.37 mg/L de  $\text{PO}_4\text{-P}$  par mg/L de DCO, avec le rapport minimum pour l'acide propionique et le maximum pour l'acide acétique. Ces rapports donnent des valeurs beaucoup plus inférieures à celles calculées théoriquement en utilisant les cheminements biochimiques du métabolisme de ces acides gras, proposés par les modèles de Comeau et al. (1986) et de Wentzel et al. (1986). Ceci a poussé Abu-Ghararah et al. (1991) à conclure que le modèle Comeau/Wentzel surestime la prédiction du phosphore relargué et du phosphore utilisé par la biomasse d'un système d'EBP.

La nature de l'affluent joue aussi un rôle important dans l'efficacité du procédé. Bortone et al. (1992) ont utilisé un réacteur biologique séquentiel opérant sur un cycle de 24 heures pour traiter un affluent d'eau usée provenant d'une ferme d'élevage de porcs avec un débit de 0.5 litres/jour. Une efficacité de 95 % d'enlèvement biologique du phosphore a été obtenue. Mais un résidu de DCO biodégradable allant jusqu'à 300 mg/L est mesuré dans l'effluent.

L'utilisation des boues primaires comme source de substrat sous forme d'AGV peut augmenter l'efficacité d'un système de déphosphatation biologique. Wedi (1992) et Lötter et al. (1992) ont investigué l'influence du recyclage de boues primaires dans le décanteur primaire afin de fournir plus d'AGV pour les bactéries bio-P. Une bonne efficacité d'enlèvement du phosphore a été rapportée dans ces conditions.

### 2.7.3. Présence de nitrates dans la zone anaérobie

Le rôle des nitrates s'est avéré capital dans un système d'EBP. Cela a été mis en évidence par l'étude de Barnard (1982) en considérant plusieurs stations de traitement des eaux usées en Afrique du Sud effectuant l'enlèvement biologique du phosphore. A partir des données recueillies il a remarqué que la proportion de nitrates recirculés dans la zone anaérobie d'un procédé ou présents dans cette zone influence la performance du système et que l'affluent doit être caractérisé par un rapport DCO/TKN de 10 : 1 ou plus pour que les nitrates ne détériorent pas le procédé.

Hascoet et al. (1985a, 1985b) ont investigué le comportement des orthophosphates et des nitrates dans un système d'EBP. Des essais en mode batch ont été réalisés en utilisant différentes concentrations en nitrates et en DCO. Avec un apport en nitrates de 50 mg/L dans la zone anaérobie, un relargage de phosphore pour des concentrations dépassant 200 mg/L de DCO a été observé. Avec des concentrations de DCO faibles, le relargage du phosphore n'a pas été significatif. Cela s'explique par une utilisation de nitrates par les micro-organismes durant les conditions anoxies, créées dans la zone anaérobie quand le nitrate a été ajouté, pour le fonctionnement du métabolisme des cellules. Ainsi l'ajout d'une façon continue continue de nitrates dans la zone anaérobie, se trouve modifier la nature de la population bactérienne ou l'activité enzymatique des bactéries parce que le relargage du phosphore n'a pas lieu immédiatement quand l'ajout de nitrates a été suspendu. Une période de 10 jours a été nécessaire aux micro-organismes de la zone anaérobie pour retrouver leurs habitudes initiales de relargage du phosphore.

Iwema et al. (1985) ont confirmé qu'en présence d'acide acétique, même à des concentrations de nitrates supérieures à 40 mg/L de  $\text{NO}_3\text{-N}$  on obtient un relargage de phosphore dans la zone anaérobie. Mais ils n'ont pas caractérisé les bactéries présentes dans le milieu. Ce qui laisse supposer que dans ces conditions il y a une compétition entre les bactéries bio-P et les bactéries dénitrifiantes.

Dans un procédé à réacteur biologique séquentiel, Manning et al. (1985) ont remarqué un bon enlèvement du phosphore même avec un rapport de DCO/TKN de 7.5 : 1. Cette valeur est inférieure à celles recommandées par Barnard (1982) et Barnard et al. (1985). Mais il faut noter aussi que d'autres facteurs peuvent rentrer en jeu, à savoir la présence de l'acétate, l'âge des boues, le pH et la température du procédé utilisé.

Gerber et al (1986) ont remarqué que sous les conditions d'anoxie, les composés tels que l'acétate et le propionate peuvent induire le relargage du phosphore, alors qu'avec les composés comme le glucose, les acides lactique et citrique, le relargage n'augmente qu'après l'épuisement des conditions anoxies.

Il est donc capital d'avoir une compréhension totale du rôle des nitrates, pour concevoir, exploiter et modéliser les systèmes d'EBP.

#### 2.7.4. Micro-nutriments

Les micro-nutriments tels que le magnésium (Mg), le potassium (K), le calcium (Ca), peuvent jouer un rôle important dans l'EBP. Gerber et al. (1987) ont remarqué un relargage du magnésium et du potassium qui accompagne le relargage du phosphore dans la zone anaérobie du système d'EBP utilisé. De la même façon, en zone aérobie, un co-transport du magnésium et du potassium relargué a été réalisé par les micro-organismes. Ceci concorde avec le modèle de Comeau/Wentzel pour l'association des cations ( $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) au relargage et à l'utilisation du phosphore inorganique par les bactéries bio-P. Cependant Gerber et al. (1987) ont obtenu des concentrations en calcium presque stationnaires durant les deux phases anaérobie et aérobie de leur procédé.

Comeau et al. (1987) ont suggéré que le relargage du potassium, du magnésium et du calcium est favorisé par l'acétate présent dans le milieu. Ces cations  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ , sont co-transportés avec les molécules de phosphates avec un rapport ionique molaire de 1 mole de métal par 1 mole de phosphate.

Lors de leurs investigations Wentzel et al. (1988) relataient que le magnésium et le potassium sont essentiels dans l'enlèvement biologique du phosphore puisqu'ils servent comme contre-ions pour la stabilisation de la chaîne des polyphosphates. Cependant le calcium, lui, joue probablement le rôle d'un cofacteur dans les réactions biochimiques et peut avoir le même rôle que le magnésium et le potassium. Ils concluaient que la présence insuffisante de ces éléments peut limiter l'EBP.

Yoon et al. (1990) ont trouvé une corrélation entre l'enlèvement du phosphore et l'enlèvement du Mg et du K avec des rapports de K/P de 0.28 mole/mole et Mg/P de 0.36 mole/mole. Ces valeurs sont similaires à celles rapportées par Comeau et al. (1987). Mais l'étude de Yoon et al. (1990) ne confirme pas l'hypothèse de Comeau et al. (1987) qui suppose que les cations forment un complexe chimique avec les polyphosphates dans la biomasse.

Étudiant le rôle des cations sur l'EBP, Pattarkine et al. (1990) ont confirmé le rôle capital du magnésium et du potassium dans la performance du système. Cependant ils n'obtenaient pas de corrélation entre les concentrations du calcium et du fer et celles du phosphore enlevé. En plus, Rickard et al. (1992), confirmant les résultats de Pattarkine et al. (1990), ont obtenu des rapports entre le potassium utilisé et le phosphore enlevé ainsi qu'entre le magnésium utilisé et le phosphore enlevé, respectivement de 0.21 et 0.30 mole/mole. Ces rapports sont légèrement inférieurs à ceux trouvés par Yoon et al. (1990).

#### 2.7.5. Âge des boues

L'âge des boues ( ou le temps de résidence cellulaire : TRB) peut avoir un effet significatif sur l'efficacité d'enlèvement du phosphore par les bactéries bio-P. L'influence du changement de l'âge des boues entre 21 et 26 jours sur le contenu en phosphore des boues (qui caractérise

l'EBP) a été mis en évidence par Reddy et al. (1987) dans un procédé Bardenpho. Les résultats obtenus sont indiqués sur la figure 2.9. On peut remarquer que le pourcentage en phosphore dans les boues augmente avec l'âge des boues. Okada et al. (1992) ont aussi obtenu des résultats similaires et ils ont recommandé de maintenir un âge de boues supérieur à 20 jours pour favoriser un bon enlèvement biologique du phosphore.

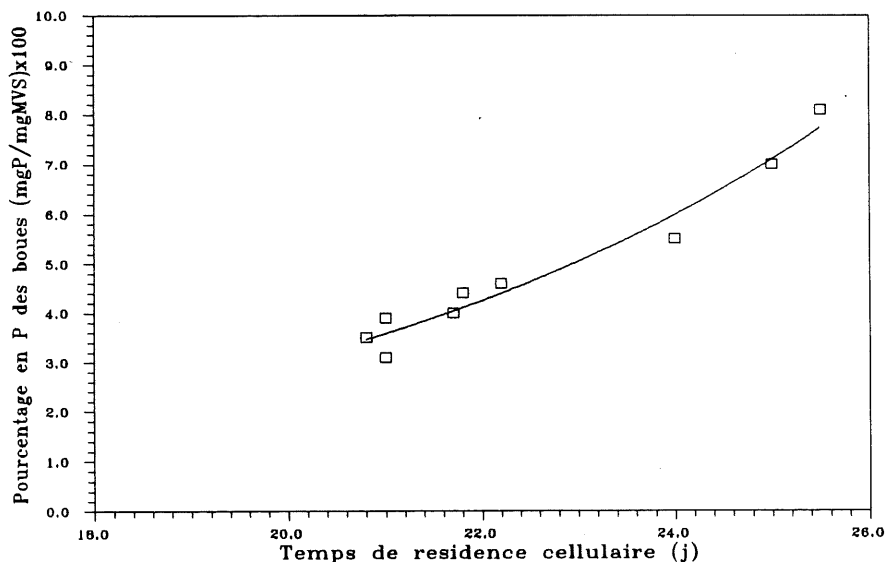


Figure. 2.9. Influence de l'âge des boues sur l'accumulation du phosphore par les bactéries bio-P.

Shao et al. (1992) ont investigué la possibilité de réduire l'âge des boues de la station d'épuration Hyperson dans la ville de Los Angeles, de 3 à 1.5 jours. Ils ont remarqué que le fait de diminuer l'âge des boues a résulté en une augmentation de la concentration en phosphore mesuré dans l'effluent de 0.4 à 3.1 mg P/ L, et le pourcentage du phosphore dans les boues diminue avec la diminution de l'âge des boues.

À une température d'opération de 17 °C, Mamais et al. (1992) a mis en évidence la possibilité d'opérer à des âges de boues faibles, mais avec inhibition complète de la nitrification. Un système (système 1) a été opéré à des âges de boues de 2.3 j, 2.6 j, et 2.9 j, et aussi avec un réacteur servant comme contrôle a été opéré à 3.2 j. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 2.10. ils montrent que des âges de boues en dessous de 2.9 j, réduisent l'efficacité d'EBP.

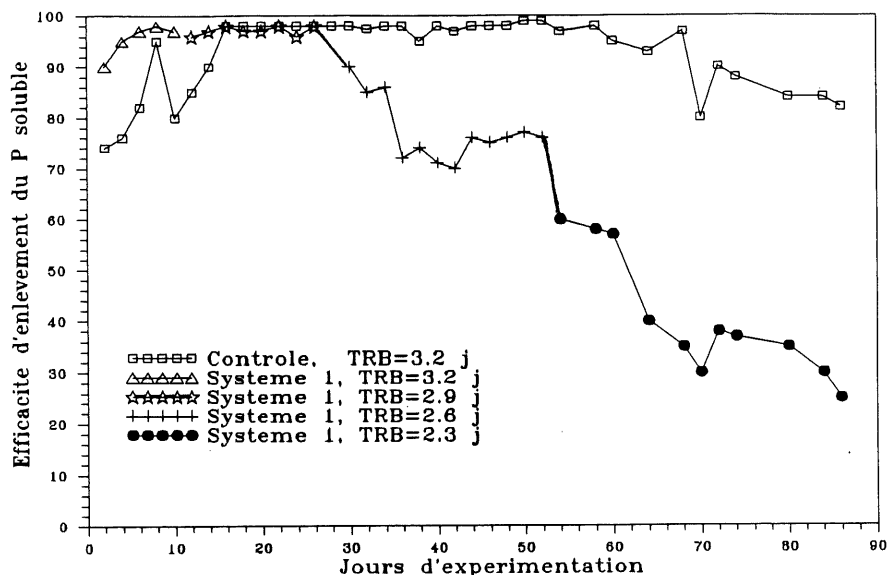


Fig. 2.10. Enlèvement biologique du phosphore à différents âges de boues.

#### 2.7.6. Température

Dans la littérature, on trouve peu de données concernant l'influence de la température sur la performance d'un système d'EBP. Les résultats des études réalisées dans des systèmes en vraie grandeur et en laboratoire sont parfois contradictoires. Spatzierer et al. (1985) ont observé une décroissance dans l'efficacité d'EBP dans une station d'épuration à des températures en dessous de 10°C. Cependant Oldham et al. (1979) et USEPA (1987) ont rapporté que l'efficacité d'enlèvement du phosphore peut atteindre 90 % à des températures inférieures à 10 °C dans deux stations d'épuration: Kelowna au Canada et Pontiac au Michigan respectivement.

Dans une usine de traitement des eaux usées avec un débit maximum de 270 m<sup>3</sup>/j, constituée par un réacteur biologique séquentiel, Marklund et al. (1994) ont obtenu un EBP d'une efficacité moyenne de 65 % sous une température moyenne des eaux usées de 6°C. Les eaux usées utilisées présentaient des concentrations de 5.5 mg P/L.

Les variations de température ont un effet sur les modifications des phosphates dans les eaux usées. Le taux d'hydrolyse des polyphosphates et orthophosphates est plus important en été qu'en hiver. Cela a été mis en évidence à partir de l'analyse de résultats de mesures dans un étang aéré au Québec (Narasiah et al., 1990).

Mc Clintock et al. (1991) ont investigué l'influence d'une gamme de température 10, 15 et 20° C sur l'EBP avec l'ajout de l'acétate de sodium. La figure 2.11 montre les variations du pourcentage de phosphore mesuré dans les boues par rapport à la quantité de MVS durant le temps de fonctionnement du procédé. À 10 °C, le pourcentage en phosphore dans les boues est très faible témoignant d'un mauvais enlèvement du phosphore par la biomasse. Mais cela peut être aussi affecté par l'âge des boues de cinq jours utilisé pour le fonctionnement de ce procédé.

Mamais et al. (1992) ont étudié l'influence de la température sur le relargage et l'utilisation du phosphore par les bactéries bio-P avec une gamme de 10 à 32°C. Ils ont remarqué que le relargage du phosphore augmente avec la température, tandis que l'utilisation du phosphore, elle diminue avec la température.

Sell et al. (1981) ont aussi remarqué un bon enlèvement biologique du phosphore dans leurs essais du laboratoire à des températures de 5° C plus important que celui obtenu à 10° C. Mais un âge de boues très important a été nécessaire pour développer cet enlèvement de phosphore. Il semble donc que les bactéries accumulant le phosphore pour des âges de boues très importants présentent aussi un caractère psychrophile

Les conclusions générales de l'influence de la température sur les bactéries bio-P doivent être considérées avec prudence. L'effet de la température sur les systèmes d'EBP consiste en deux volets:

- L'effet de la température sur les cinétiques et les taux de relargage et d'utilisation du phosphore par les bactéries bio-P.



- L'effet de la température sur les bactéries hétérotrophes autres que les bio-P.

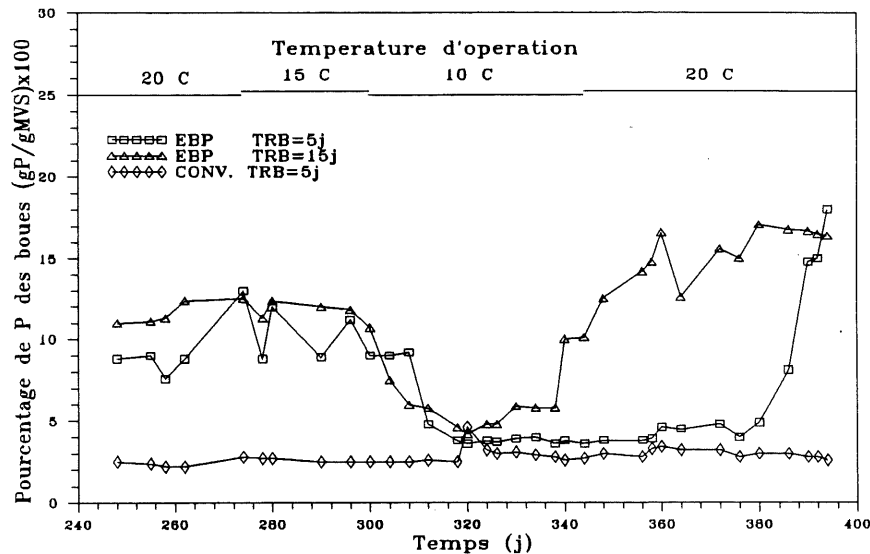


Fig. 2.11. Effet de l'âge des boues et de la température sur le pourcentage de phosphore dans les boues.

Les contradictions relevées dans la littérature nous amène donc à croire qu'il faudra investiguer d'avantages des cinétiques biologiques du métabolisme du phosphore par les bactéries bio-P, sous des différentes gammes de températures devient nécessaire.

#### 2.7.7. Métaux lourds

Il est admis que la présence accidentelle ou rémanente de métaux lourds dans les rejets d'eau usée peut atténuer gravement les capacités épuratoires des stations d'épuration. Les métaux lourds, qui peuvent causer ce dommage, proviennent des eaux résiduaires d'industries telle que la transformation de métaux, les tanneries, les sidérurgies, les industries de textile, les gaz d'échappement, et les industries de fabrication de matières synthétiques.

Plusieurs études se sont intéressés à l'influence de métaux lourds sur le rendement d'épuration dans une station conventionnelle boues activées (Olivier et al., 1974; Brown et al., 1979; Lamb

et al., 1973; Gockay et al., 1991, Cheng et al., 1975; Madoni et al., 1996; Battistoni et al., 1993; et Dilek et al., 1992). Différentes méthodes ont été utilisées pour déterminer l'effet toxique des métaux lourds causée à la biomasse dans les boues activées. Ainsi, on a utilisé le taux de consommation d'oxygène par la biomasse (Lamb et al., 1973), l'assimilation du gaz carbonique (Cherdynsteva, 1982), le comptage des bactéries vivantes avant et après intoxication aux métaux (Bitton et al., 1978), la réduction de l'efficacité d'abattement de la DCO et de la DBO (Mowat, 1976; Poon et al., 1971), le contrôle de la consommation d'oxygène par respirométrie (Kunz et al., 1976), le dosage de l'activité enzymatique dehydrogénazique des boues activées (Anderson et al., 1988), la turbidité de l'effluent (Neufield, 1976), et l'inhibition de la nitrification (Bream et al., 1981).

Edwards et al. (1947) ont été les premiers à rapporter que les bactéries autotrophes responsables de la nitrification sont les plus susceptibles à l'inhibition par les ions métalliques dans les boues activées, par rapport aux autres bactéries hétérotrophes. En plus, Kassan (1993) soutient les conclusions allant dans le même sens en affirmant que les bactéries autotrophes sont plus sensibles à l'intoxication par les métaux lourds.

L'intoxication des boues activées par les métaux lourds a été étudiée par plusieurs chercheurs. Kunz et al. (1981) ont observé que l'inhibition des micro-organismes par les métaux lourds, mesurée par le taux d'utilisation d'oxygène, commence entre 20 et 50 mg de métal/L. Neufield (1976) a observé un changement dans les espèces bactériennes prédominantes dans les boues activées durant l'acclimatation des micro-organismes aux fortes concentrations en cations métalliques. Les expériences réalisées en essais discontinus sur les boues nitrifiantes, par Benmoussa et al. (1986), pour déterminer les taux d'inhibition du cuivre, du nickel, du cadmium, et du zinc ont montré que les constantes d'inhibition se présentent suivant l'ordre suivant :  $K_i(\text{Cu}^{2+}) > K_i(\text{Cd}^{2+}) > K_i(\text{Zn}^{2+}) > K_i(\text{Ni}^{2+})$ . Pour tous ces composés l'inhibition de la biomasse devient importante pour des concentrations supérieures à 10 mg métal / g MVS. Tyagi et al. (1988) ont démontré que l'effet toxique des cations métalliques sur l'efficacité de la biomasse dans les boues activée est proportionnelle au rapport de la concentration de l'inhibiteur par la concentration en MVS. Mazieski (1995) a étudié l'effet du chrome hexavalent sur le taux de croissance de la biomasse dans les boues activées au laboratoire, il a trouvé que l'ajout de

concentrations variant de 0.1 à 11 mg/L fait décroître considérablement le taux maximum de croissance de bactéries. Cependant Kockay et al. (1991) ont remarqué que des dosages continus de  $\text{Cr}^{6+}$  de 1.0 à 25 mg/L sur des boues activées acclimatées stimulent plutôt le taux de croissance maximum des bactéries, puisqu'ils ont trouvé que ce taux augmente deux fois plus en présence de 25 mg  $\text{Cr}^{6+}$ /L qu'en absence totale de  $\text{Cr}^{6+}$ . Dans un pilote de laboratoire, Semsari et al. (1994) ont étudié la toxicité du  $\text{Cr}^{3+}$  sur les boues activées, ils ont trouvé que la constante de vitesse de dégradation du substrat passe de 2.22 L/mg.h en absence d'inhibiteur  $\text{Cr}^{3+}$  à 0.27 L/mg.h en présence de 200 mg  $\text{Cr}^{3+}$ /L.

Dans l'étude de Tyagi (1985), des essais en batch ont été réalisés pour étudier l'inhibition causée par les métaux : Pb, Cr, Zn, Ni, et un mélange de ces métaux; il a montré que pour tous ces cas, le taux de croissance maximum de la biomasse décroît quand on augmente le dosage en métaux. Cependant, dans l'étude de Dilek et al. (1992), ils ont considéré différentes concentrations de cuivre, de nickel et de chrome hexavalent. Ils ont alors étudié l'effet toxique de ces métaux sur les boues activées dans des essais en batch. En général, ils ont obtenu une augmentation du taux de croissance maximum des bactéries pour le chrome et le cuivre quand le dosage en métal augmente, et une diminution de ce taux pour le nickel.

Différents cations métalliques ont aussi été considérés par Knoetze et al. (1980). L'effet de ces cations a été trouvé en général tolérable pour des concentrations inférieures à 1 mg/L sur des bactéries dénitrifiantes dans un système d'enlèvement d'azote par disques biologiques. D'autre part, à l'aide des essais en mode batch, Hascoet et al. (1985b) ont étudié l'effet du cuivre sur le relargage et l'utilisation du phosphore en utilisant des boues bio-P provenant d'un système en continu de laboratoire pour l'EBP. Ils ont trouvé que la dose maximale tolérable au dessus de laquelle l'efficacité du système commence à diminuer est de 1 mg/L. Ils ont aussi rapporté que les doses maximales admissibles pour ne pas affecter l'efficacité de l'EBP sont de 10 mg/L pour le cadmium, de 5 mg/L pour le nickel, de 10 mg/L pour le zinc, et de 100 mg/L pour le plomb. Cependant, la forte concentration seuil du Plomb montre qu'une précipitation importante du Plomb a eu lieu au moment de son introduction dans la liqueur mixte, ne pouvant pas ainsi influencer l'activité bactérienne. De même aucun modèle d'inhibition des bactéries bio-P par ces métaux utilisés n'a été rapporté à cet égard, et les paramètres de cinétiques biologiques du

comportement des bactéries bio-P, en présence de ces métaux, n'ont pas été étudiés. La limitation de leurs essais en batch à créer un simple effet de "choc" sur la biomasse bio-P avec une concentration de métal donnée compromet la validité des concentrations maximales tolérables déterminées. Car pour une usine d'épuration recevant continuellement des rejets industriels, les boues activées possèdent l'habilité à s'acclimater à certaines concentrations en métaux. Il est donc souhaitable d'étudier l'effet des métaux  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ , Cu et Pb sur les boues bio-P dans un système d'EBP après acclimatation de la biomasse à chaque concentration du métal considéré (c'est à dire dans les conditions d'un régime permanent de présence du métal).

La revue de littérature traitant de l'influence des métaux lourds sur les boues activées montre que la toxicité des métaux sur la biomasse dépend des facteurs suivants : la concentration du métal, le type du métal, les espèces bactériennes présentes dans les boues activées, le procédé de traitement, et les concentrations des autres cations présents.

L'influence des cations métalliques sur la biomasse en boues activées, présentée par la littérature, présente parfois des contradictions dans les conclusions retenues. Par conséquent et l'influence de ces cations sur les cinétiques biologiques de la biomasse bio-P doit être investiguée de façon plus approfondie afin de développer des modèles d'inhibition spécifiques au comportement des bactéries bio-P vis à vis de ces métaux lourds.

#### 2.7.8. Autres facteurs affectant la performance d'EBP

L'entraînement de l'oxygène dans la zone anaérobie aura le même effet négatif que les nitrates sur le relargage du phosphore. Toutefois, dans la zone aérobie, le maintien d'un taux d'oxygène dissous entre 2 à 6 mg/L est requis pour stimuler les bactéries à stocker le phosphore (Vacker et al., 1967; Wells, 1969; Malnou et al., 1984).

L'influence du pH sur le relargage du phosphore a aussi été investigué (Potgieter et al., 1983; Comeau et al., 1987; Wentzel et al., 1989a). Potgieter et al. (1983) ont obtenu des relargages importants de phosphore à des pH entre 3 et 5 unités, et une accumulation du phosphore par la

biomasse sous des pH au-delà de 7 unités. Cependant Comeau et al. (1987) ont obtenu un relargage du phosphore même à des pH 9. Wentzel et al. (1988) ont suggéré de maintenir le pH à 7 unités dans la zone anaérobie et autour de 7.5 unités dans la zone aérobie, en signalant aussi qu'à des pH élevés il est possible d'avoir un échec du procédé.

D'autres paramètres peuvent aussi causer un échec du procédé, tels que : un court dérangement du système par un affluent dilué de telle sorte que la qualité de l'affluent n'offre plus des conditions favorables au relargage du phosphore en zone anaérobie. Ceci peut se traduire par l'effet d'une dilution causée par des eaux pluviales. Okada et al. (1992) ont mis en évidence l'effet d'une dilution continue de l'affluent pendant 3 jours sur la performance d'un système effectuant l'EBP à l'échelle du laboratoire. Cependant il reste à étudier la possibilité du changement physiologique de la communauté bactérienne après avoir subi un tel choc, pour pouvoir comprendre pourquoi la performance du procédé est affectée.

### 3. OBJECTIFS DE LA RECHERCHE ET APPROCHE UTILISÉE

D'après la revue de littérature que nous venons d'exposer, il se dégage que des recherches sont encore nécessaires afin d'aider d'avantages dans la compréhension du comportement des bactéries bio-P dans un système d'enlèvement biologique du phosphore. Dans ce sens cette recherche couvrent les axes suivants:

#### 1) **Développement de l'EBP:**

Afin de comprendre plus amplement le comportement des bactéries bio-P, nous avons utilisé des boues activées provenant d'une station d'épuration conventionnelle pour l'ensemencement du RBS utilisé pour le développement de l'EBP. Dans ces conditions, le développement de l'EBP nécessite une période d'acclimatation très importante. Ainsi nous avons cherché à sélectionner des paramètres de contrôle de la qualité d'épuration du système et à optimiser cette période d'acclimatation nécessaire en utilisant des inoculums de boues bio-P préalablement acclimatés. C'est ce qui constitue le premier volet de cette recherche.

#### 2) **Détermination de la concentration optimale des AGV offrant un relargage important:**

Nous avons vu que les acides gras volatils stimulent le relargage du phosphore. Ce relargage témoigne d'une bonne activité biologique des bactéries bio-P. Notre but ici est de déterminer la concentration optimale en acides gras volatils qui offre la meilleure stimulation du relargage du phosphore sous des conditions anaérobies, ainsi que les constantes du taux de relargage. Par la suite nous développerons un modèle mathématique régissant la cinétique de relargage du phosphore. De ce fait, nous allons déterminer les constantes du taux de relargage du phosphore pour des concentrations en AGV variant de 10.8 à 205.3 mg DCO/L

### **3) Modèle de relargage du phosphore:**

En utilisant les résultats des essais que nous avons réalisés pour l'étude de relargage du phosphore sous des conditions d'anaérobie en présence de différentes concentrations d'AGV, un modèle de relargage du phosphore sera proposé.

### **4) L'influence de la température sur la cinétique du relargage du phosphore:**

L'influence de la température sur le comportement des bactéries bio-P est important. Les contradictions relevées dans les résultats rapportés par la littérature nous amène à croire qu'une étude de cinétiques de relargage et d'utilisation du phosphore à différentes températures dans un système d'EBP est nécessaire. Ceci est justifié par la constatation dans la littérature qu'un simple contrôle de l'efficacité d'un procédé d'EBP n'a pas fourni de résultats convaincants quant à l'effet de changement de température sur le comportement des bactéries bio-P. Dans ce sens, une gamme de température de 5, 10, 15, et 20 et 25 °C sera considérée dans cette étude pour évaluer l'influence de la température sur les cinétiques du relargage du phosphore sous des conditions anaérobies.

### **5) Évaluation de l'influence des métaux lourds sur l'EBP:**

Très peu d'informations existent quant à l'influence des métaux lourds sur l'EBP. Les modèles de cinétiques d'inhibition des bactéries bio-P par les métaux lourds n'ont pas été proposés dans les cas spécifiques d'EBP. Ceux qui existent ont été proposés pour le cas des systèmes conventionnels des boues activées. Pour répondre à ce besoin, nous allons étudier l'influence des métaux lourds : chrome III, chrome VI, cuivre et plomb sur l'efficacité d'EBP dans un réacteur biologique séquentiel, et aussi l'influence de ces métaux lourds sur les cinétiques de relargage et d'utilisation du phosphore. Nous cherchons aussi à travers cette étude à proposer des modèles mathématiques d'inhibition du relargage et d'utilisation du phosphore par la biomasse bio-P. Ces modèles seront spécifiques à chaque métal considéré. En plus, nous déterminerons les capacités d'absorption de ces métaux par les bactéries bio-P.

#### 6) **Évaluation du rôle du glycogène dans l'EBP:**

Les études citées dans la littérature et traitant du métabolisme bactérien du glycogène par les bactéries bio-P n'ont pas abouti à des conclusions similaires. Il semble que la qualité du substrat fournie aux bactéries joue un rôle très important dans le comportement du glycogène dans les cellules bactériennes. Nous allons donc nous intéresser ici à évaluer la cinétique du comportement du glycogène dans la biomasse de deux systèmes fonctionnant avec une séquence anaérobie/aérobie, mais différents au niveau de la concentration en phosphore fournie dans l'affluent. L'un des systèmes est alimenté avec une très faible concentration en phosphore pour limiter le développement de bactéries bio-P, et dans l'autre les bactéries bio-P ont été développées.

Deux séries d'essais en batch sous des conditions d'anaérobie seront réalisées, la première en utilisant la biomasse provenant du système effectuant l'EBP, et la deuxième série sera réalisée à l'aide des boues activées qui n'accumulent pas les polyphosphates. Pour ces essais en batch, différents substrats ont été utilisés pour stimuler le métabolisme bactérien à savoir ; substrat à base de sucres seulement, substrat à base d'AGV seulement, et substrat à base d'un mélange de sucres et d'AGV.



## 4. MATÉRIELS ET MÉTHODES

### 4.1 Montage expérimental

Le montage expérimental (figure 4.1) consiste en un réacteur biologique séquentiel (RBS) en Plexiglas de forme cylindrique. Son diamètre intérieur est de 20.3 cm (8 po) et son diamètre extérieur est de 21.6 cm (8.5 po).

À partir d'un réservoir d'eau usée synthétique, qui est maintenue en agitation continue avec une vitesse d'agitation de 60 tours/min., on alimente le réacteur à l'aide d'une pompe péristaltique qui débite à 0.55 litres/minute afin que le pompage de l'affluent dans le réacteur se fasse au cours d'une période de 10 minutes. En même temps le mélange de la liqueur mixte dans le réacteur est assuré par un agitateur mécanique qui opère à une vitesse de 250 tours/min. L'agitateur est munie de palettes qui ont des dimensions de 7 cm de longueur et 1.5 cm de largeur. Ces dimensions répondent aux configurations standards du mélange complet (Tchabanoglous et al., 1987).

L'aération de la boue activée, dans le réacteur, est assurée pendant la phase aérobie par une pompe à aquarium débitant dans un diffuseur en pierre poreuse placée au fond du réacteur. Le débit d'air introduit à l'aide de cette pierre est de fixé à 2700 ml d'air par minute. Une vanne solénoïde permet de contrôler le soutirage de l'effluent après un cycle de traitement. La boue en excès est évacuée en ouvrant manuellement une vanne placée à la base du réacteur.

Un contrôleur programmable à quatre sorties permet d'ordonner les opérations à réaliser pendant chaque cycle de traitement du réacteur.

Les caractéristiques techniques de ce matériel sont comme suit:

- Pompe péristaltique : Pompe MASTERFLEX, avec un débit qui peut varier de 0.06 à 2280 ml/min.
- Agitateur mécanique : Agitateur mécanique COFRAMO, avec vitesse variable de 45 à 2000 tours/min.

- Pompe à aquarium : Pompe FORCE, pouvant débiter 500 à 3000 ml d'air/min.
- Vanne solénoïde : de marque ASCO, normalement fermée, avec un temps de réponse de 20 à 40 millisecondes.
- Contrôleur programmable : CHRONTRON XT, à 4 circuits indépendants, avec un maximum de puissance de 1000 Watts et une précision de 1 seconde.

Le choix d'un réacteur de forme cylindrique de diamètre intérieur de 20.3 cm (8 po), avec une hauteur totale de 35 cm, offre à ce réacteur une contenance totale de 11.3 litres. Nous avons fixé un volume utile (décantation + tranche de boues) correspondant à une hauteur de 25 cm. Cela implique donc un volume utile de 8.1 litres. Ainsi les dimensions suivantes ont été retenues:

- Volume total du réacteur : 11.3 litres.
- Volume utile du réacteur : 8.1 litres.
- Volume de la tranche des boues : 2.6 litres.
- Volume de l'effluent à soutirer : 5.5 litres.
- Hauteur totale du réacteur, H : 35 cm.
- Hauteur de la tranche des boues,  $h_2$  : 8 cm.
- Hauteur de l'effluent,  $h_1$  : 17 cm.
- Hauteur de la revanche (*freeboard*) : 10 cm.

Le choix de ces dimensions se justifie par les différentes conceptions relevées dans la littérature. Ainsi, Arora et al. (1985) donnaient en pourcentage les volumes maximums suivants à respecter: pour le soutirage de l'effluent, 2/3 du volume utile, et pour la tranche de boues décantées, 1/3 du volume utile.

Un trop plein d'un diamètre de 1.27 cm (0.5 po) est installé à une hauteur de 25 cm de la base du réacteur afin de contrôler le volume utile, et de permettre l'évacuation de la liqueur mixte au cas où une défectuosité de la vanne solénoïde survient. Cependant le soutirage des boues est contrôlé par une vanne manuelle avec une sortie aménagée à la base du réacteur. Cet orifice de sortie a un diamètre de 1.27 cm (0.5 po). Le soutirage de l'effluent après décantation se fait par la vanne solénoïde qui a un orifice à l'ouverture de 0.635 cm (0.25 po).

Le réservoir d'eau usée synthétique est suffisant pour fournir une autonomie d'alimentation en substrat de deux jours. Cette eau usée est maintenue en agitation continue, pour avoir une homogénéisation de l'affluent.

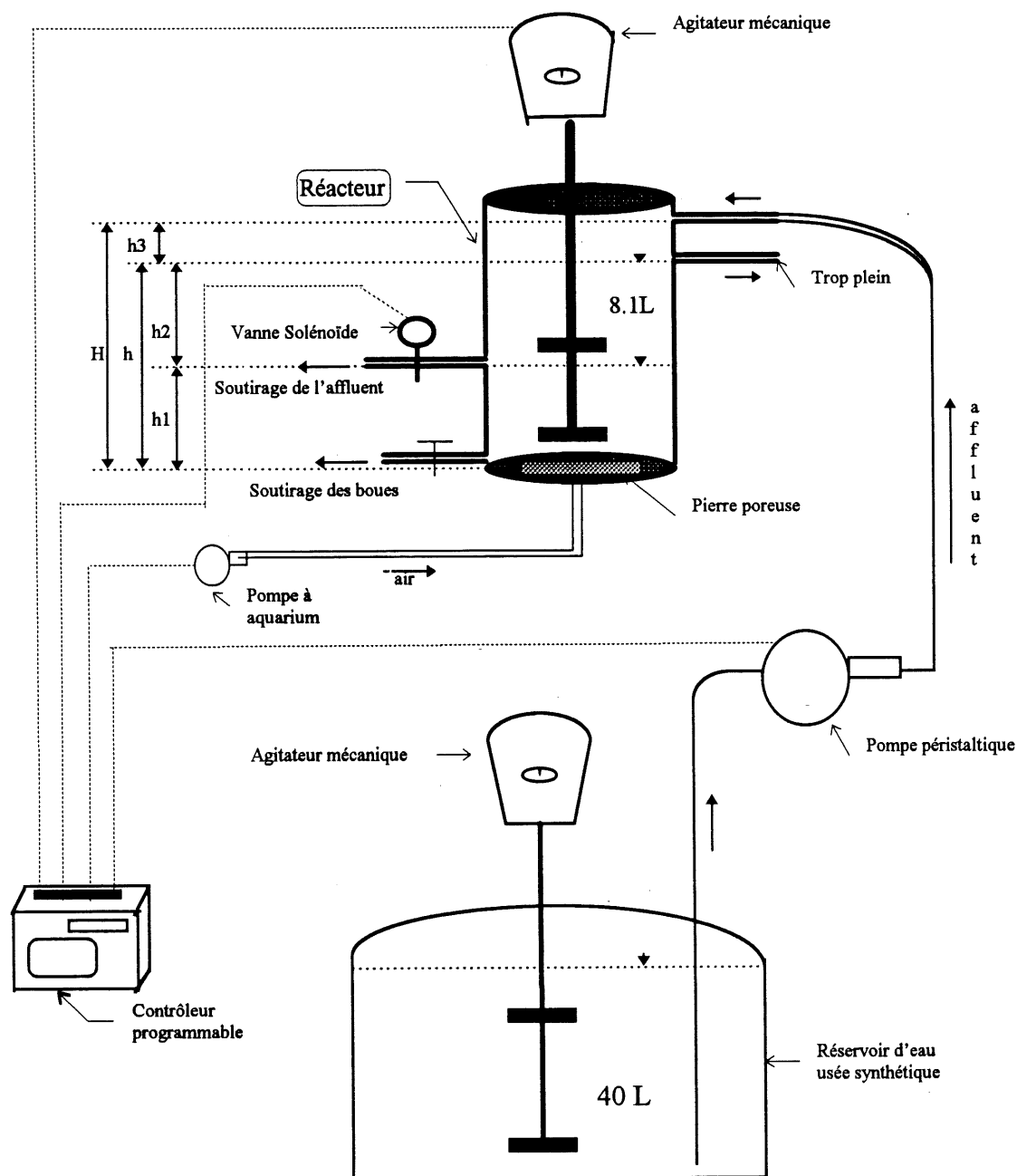


Fig. 4.1. Montage expérimental.

#### 4.2. Boues activées d'ensemencement

Les boues activées utilisées pour l'ensemencement du réacteur proviennent de la station d'épuration de la ville de Magog. Cette station d'épuration utilise le mode de fossé d'oxydation avec aération. L'enlèvement du phosphore est réalisé chimiquement par l'ajout de l'alun à la sortie du bassin d'oxydation au début de la conduite liant ce bassin avec le décanteur secondaire. Les rendements de traitement observés pour cette station sont de 97 % en moyenne de réduction pour la DBO<sub>5</sub>, de 3 mg/L au maximum à l'année de MES dans l'effluent, et de 0.3 mg/L au maximum à l'année de phosphore total (ville de Magog, 1995). La filtration de l'effluent a permis d'atteindre les efficacités de traitement relatives à l'enlèvement du phosphore et des MES. L'âge des boues de cette usine est de 15 jours.

Les boues activées sont échantillonnées à la fin du parcours des fossés d'oxydation avant d'y ajouter l'alun. Immédiatement après son prélèvement, la liqueur mixte est aérée et transportée au laboratoire pour sa caractérisation. Les caractéristiques moyennes de cette liqueur mixte sont rassemblées dans le tableau 4.1 (le nombre de données ayant servi dans les calculs est de 10).

Tableau 4.1. Caractéristiques des boues activées de la station d'épuration de la ville de Magog, utilisées pour l'ensemencement du réacteur (RBS).

Paramètre	Moyenne
MES	3880 ± 102 mg MES/L
MVS	2638 ± 111 mg MVS/L
IVB	90 ± 10 ml/g
DCO	3295 ± 150 mg/L
DBO <sub>5</sub>	1230 ± 110 mg/L
P total	0.0162 ± 0.0006 mg P/mg MVS
TKN	0.0930 ± 0.0008 mg N/mg MVS

#### 4.3. Type d'eau usée synthétique (EUS)

L'eau usée utilisée comme substrat est une eau usée synthétique (EUS) relativement plus chargée, comparée à une eau usée typiquement domestique dont les caractéristiques sont présentées par Metcalf & Eddy (1991).

Cette eau usée est fabriquée à partir de produits chimiques de laboratoire de qualité ACS ou de qualité équivalente, et les quantités de ces produits sont dissoutes dans l'eau du robinet pour obtenir les caractéristiques désirées de cette eau usée sont données par le tableau 4.2.

Tableau 4.2. Composition de l'eau usée synthétique utilisée.

Produit	Concentration (mg de Produit / L d'eau du robinet)
Bactopeptone	150
Sucrose $C_{12}H_{22}O_{11}$	500
Acétate de sodium $CH_3COO Na \cdot 3H_2O$	332.5
Phosphate de potassium $KH_2 PO_4$	50
Chlorure d'ammonium $NH_4 Cl$	30
Chlorure de calcium $Ca Cl_2$	25
Chlorure de magnésium $Mg Cl_2 \cdot 6 H_2O$	92.5
Chlorure de potassium $K Cl$	25
Bicarbonate de sodium $Na HCO_3$	100
Sulfate de fer $Fe SO_4 \cdot 7 H_2O$	12.5
Sulfate de manganèse $Mn SO_4 \cdot H_2O$	5
Sulfate de cuivre $Cu SO_4 \cdot 5 H_2O$	2.5
Acétate de zinc $Zn (CH_3 COO)_2 \cdot 2 H_2O$	2.5

L'eau du robinet utilisée pour fabriquer le mélange d'EUS est adéquatement stabilisée à la température de la pièce et le chlore libre que peut contenir cette eau est éliminé en laissant séjourner l'eau du robinet dans un grand contenant pendant deux jours pour son utilisation dans la fabrication du mélange d'EUS . Les caractéristiques moyennes que présente ce mélange d'EUS sont données par le tableau 4.3 suivant:

Tableau 4.3. Les caractéristiques moyennes de l'EUS.

Caractéristique analysée de l'EUS	Valeur moyenne du paramètre
Demande chimique en oxygène	736 ± 115 mg DCO/L
Demande biochimique en oxygène à 5 jours	480 ± 72 mg O <sub>2</sub> /L
Carbone organique total	247 ± 49 mg C/L
Matières en suspension	négligeables
Phosphore total	36.5 ± 5.5 mg PO <sub>4</sub> /L
Orthophosphates	33.8 ± 5.9 mg PO <sub>4</sub> /L
Azote Kjeldhal total	32.8 ± 3.8 mg N/L
Azote ammoniacal	11.7 ± 1.9 mg N/L
Température	20 ± 2 °C
pH	7 ± 0.5 unités
Alcalinité	73 ± 12 mg Ca CO <sub>3</sub> /L
Sulfates	8 ± 2 mg /L
Magnésium	11.5 ± 0.8 mg/L
Calcium	9.6 ± 1.1 mg/L
Potassium	27.3 ± 2.1 mg/L
Manganèse	1.6 ± 0.6 mg/L
Fer	2.5 ± 0.3 mg/L
Cuivre	0.4 ± 0.2 mg/L
Acétate	164 ± 10 mg DCO/L
Chlorures	55.8 ± 3.2 mg/L

#### 4.4. Procédure d'opération du RBS

##### 4.4.1 Séquence des opérations du réacteur

Le réacteur biologique séquentiel est opéré pour un cycle de 8 heures suivant la séquence : Apport de l'affluent → Phase anaérobie → Phase aérobie → Période de décantation → Soutirage de l'effluent → période d'attente pour entamer le cycle suivant. Les temps alloués à chaque période pendant un cycle de 8 heures, ainsi que l'état du mélange et de l'aération sont donnés au tableau 4.4.

Tableau 4.4. Opérations de traitement dans le RBS.

Opération	Durée	Mélange	Aération
Apport de l'affluent par pompage	10 min.	oui	non
Anaérobie	2.5 h	oui	non
Aérobie	3.5 h	oui	oui
Décantation	1.5 h	non	non
Soutirage de l'effluent	5 min.	non	non
Attente	15 min.	non	non

##### 4.4.2. Développement de l'enlèvement biologique du phosphore

Une fois les boues activées ramenées de la station d'épuration de la ville de Magog, on les laisse décanter pendant une demi-heure et on élimine le surnageant. Les boues ainsi concentrées sont introduites dans le réacteur, après les avoir caractérisées suivant les paramètres du tableau 4.1. Et puis la séquence des opérations ci-dessus décrite commence.

Le mélange constituant l'eau usée synthétique est fabriqué chaque deux jours. Nous avons remarqué qu'en général les caractéristiques de cette EUS restent pratiquement inchangées durant

cette période de séjour, en attendant la fabrication d'un nouveau mélange.

Okada et al. (1992) ont recommandé de maintenir un âge de boues dans le réacteur supérieur à 20 jours pour garantir un bon enlèvement biologique du phosphore. Ainsi, le contrôle de l'âge des boues a été réalisé par un soutirage d'environ 240 ml de liqueur mixte, pendant la période d'attente, chaque deux jours par la vanne située au fond du réacteur. Ce soutirage a permis de maintenir un âge de boues en moyenne égal à 21.7 jours, dans le système. Le temps de résidence hydraulique du système est de 11.8 heures ( $11.8 \text{ h} = \text{volume du réacteur (8.1L)} / \text{débit pompé dans le réacteur pendant une journée (5.5 L/cycle à raison de 3 cycles par jour)}$ )).

Des échantillons sont prélevés régulièrement (en général chaque jour) dans l'affluent et l'effluent, et les analyses suivantes sont effectuées : DCO, COT, nitrates, TKN, ammoniac, phosphore total, et orthophosphates. D'une façon sporadique (souvent une fois par semaine), l'analyse des MES et des MVS est aussi réalisée sur ces échantillons d'affluent et d'effluent.

Régulièrement pendant quelques cycles de traitement, la qualité de la liqueur mixte du réacteur est contrôlée en procédant aux analyses suivantes : MES, MVS, IVB, Oxygène dissous, pH, et la température. Les valeurs moyennes obtenues pour ces paramètres sont données au tableau 4.5:

Durant la période d'acclimatation de la biomasse au substrat qui a servi pour le développement des bactéries bio-P, quelques cycles de fonctionnement du réacteur sont choisis d'une façon sporadique de telle sorte à effectuer au cours de chacun de ces cycles des prélèvements d'échantillons de liqueur mixte à des intervalles de temps d'au moins une demi-heure. Sur les surnageants de la liqueur mixte prélevée, les analyses suivantes sont effectuées: DCO, COT, TKN, nitrates, et orthophosphates. Le contenu en phosphore des boues, les MES, et les MVS sont déterminés dans la liqueur mixte prélevée à la fin d'une période de décantation. Ces échantillons sont prélevés d'une façon sporadique depuis le démarrage du système et au cours de toute la période de développement de l'EBP. Dans le but de quantifier les fractions dissoutes et suspendues pour ces différents paramètres de contrôle du réacteur et leur comportement dynamique, après avoir atteint la stabilité du système au bout de cinq mois d'acclimatation, nous



avons choisi le jour typique 250 et pendant un cycle de traitement de cette journée nous avons suivi le comportement de ces paramètres à des intervalles de temps réguliers. Ainsi on analysait les paramètres suivants dans les surnageants filtrés et non filtrés des échantillons prélevés : DCO, COT, TKN, ammoniac, nitrates, phosphore total, et orthophosphates. Les surnageants sont filtrés sur 0.45  $\mu\text{m}$ . Et dans la liqueur mixte du réacteur on mesurait la température, l'oxygène dissous, le pH, et l'ORP. Le contenu en phosphore, les MES et les MVS sont analysés dans la liqueur mixte du réacteur échantillonnée vers la fin de la période aérobie.

Tableau 4.5. Caractéristiques moyennes de la liqueur mixte dans le RBS.

Paramètre	valeur moyenne
MES	$4600 \pm 110 \text{ mg/L}$
MVS	$3800 \pm 103 \text{ mg/L}$
IVB	$80 \pm 10 \text{ ml/g}$
Oxygène dissous en phase anaérobie	début: $0.3 \pm 0.1 \text{ mg O}_2/\text{L}$ , fin: $0.0 \text{ mg O}_2/\text{L}$
Oxygène dissous en phase aérobie	début: $0.0 \text{ mg O}_2/\text{L}$ , fin: $5.2 \pm 0.4 \text{ mg O}_2/\text{L}$
pH en phase anaérobie	$6.6 \pm 0.2$
pH en phase aérobie	$7.4 \pm 0.2$
Température	$21 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$

La demande biochimique en oxygène après cinq jours a été déterminée sporadiquement dans l'affluent et l'effluent, pendant cette période de développement de l'EBP.

Un contrôle de la qualité des floccs des boues activées est réalisé par observation au microscope optique, pour évaluer la décantabilité des floccs et contrôler le feutrage des boues <<bulking>>, cela nous a permis de pouvoir prendre les mesures nécessaires en cas de détection de bactéries filamenteuses dans la liqueur mixte du réacteur. Les mesures à prendre pour contrer le problème des filamenteuses ont consisté en l'ajout de boues activées riches en protozoaires ciliés qui

deviennent des prédateurs des bactéries filamenteuses selon la procédure développée par Inamori et al. (1991).

#### 4.4.3. Optimisation du temps nécessaire pour atteindre une stabilité de l'efficacité du système ("Steady State")

Une fois que les bactéries bio-P ont été développées et acclimatées au substrat, nous avons construit et fait démarrer un deuxième réacteur identique au premier opérant tous les deux en parallèle. Ce deuxième réacteur a été utilisé pour essayer d'étudier la possibilité de réduire le temps nécessaire au développement des bactéries bio-P capables de fournir la même efficacité d'EBP que nous avons obtenue après 5 mois de fonctionnement, par le premier système. Les deux réacteurs sont contrôlés par le même contrôleur programmable avec les périodes allouées à chaque opération séquentielle de traitement qui sont présentées au tableau 4.4. C'est alors que la réduction du temps nécessaire aux bactéries conventionnelles pour s'acclimater à un nouveau substrat et à de nouvelles conditions de fonctionnement pour avoir un développement de l'EBP a été rendu possible grâce à l'utilisation de volumes d'inoculums de boues bio-P provenant du premier système qui sont combinées avec les boues activées conventionnelles issues de la station d'épuration de la ville de Magog.

Pour chaque période de développement de l'EBP dans le deuxième réacteur, des boues sont échantillonnées à la station d'épuration conventionnelle de la ville de Magog et utilisées comme biomasse de fonctionnement de ce réacteur en y ajoutant un inoculum de boues bio-P provenant du premier réacteur. Les boues provenant de l'usine de Magog, sont d'abord analysées avant d'être introduites dans le deuxième réacteur, de telle sorte à déterminer les caractéristiques énumérées au tableau 4.1. Elles sont aussi concentrées par décantation gravitaire jusqu'à ce qu'elles présentent les caractéristiques moyennes de la liqueur mixte présentées dans le tableau 4.5. En général, une décantation gravitaire d'une dizaine de minutes était suffisante pour obtenir ces caractéristiques.

Trois périodes de fonctionnement ont été contrôlées dans le deuxième réacteur:

- La première, en utilisant un volume de boues conventionnelles concentrées de 2550 ml avec un inoculum de 50 ml de boues bio-P provenant du premier système. Ce qui représente un

inoculum de 2 %, puisque le volume totale de la tranche des boues dans le réacteur est de 2600 ml ( $2\% = 50/2600$ ).

- La deuxième, en utilisant un volume de boues conventionnelles concentrées de 2450 ml et un inoculum de 150 ml de boues bio-P. Ce qui donne un inoculum de 6 %.

- Et la troisième période, on a utilisé des boues conventionnelles concentrées à raison de 2300 ml avec un inoculum de boues bio-P de 300 ml. Ce qui représente un inoculum de 12 %.

Après l'ensemencement du deuxième système par l'un des inoculums cités ci-dessus, des analyses journalières des paramètres: phosphore total, et orthophosphates dans l'affluent et l'effluent sont effectuées. Tout au cours du suivi de ces paramètres, pour des cycles séquentiels de traitement choisis d'une façon sporadique, on suivait aussi l'évolution des orthophosphates au bout de chaque intervalle de temps d'une demi-heure en général pendant le cycle de 8 heures.

Pour étudier l'évolution des caractéristiques de la liqueur mixte pendant le développement des bactéries bio-P dans le deuxième système, on examine la qualité des boues au microscope, et on analyse les MES, les MVS, et le contenu des boues en phosphore. Quand l'EBP devient stable dans le deuxième système, on analyse les autres paramètres dans l'affluent et l'effluent à savoir: DCO, COT, TKN, et l'ammoniac pour déterminer l'efficacité d'abattement des pollutions correspondantes.

Pour chaque période d'essais réalisés avec un inoculum de bio-P choisi, le deuxième réacteur est maintenu en fonctionnement jusqu'au moment où on atteint une stabilité dans l'efficacité de l'EBP de ce système. Après avoir atteint cette stabilité, les boues bio-P développées sont éliminées et le réacteur est bien nettoyé pour entamer une autre période d'essais avec un autre inoculum donné de boues activées bio-P.

#### 4.4.4. Essais en batch pour l'étude des cinétiques de relargage du phosphore

Pour l'étude des cinétiques de relargage du phosphore sous condition anaérobie, nous avons utilisé des boues bio-P prélevées à partir du premier réacteur. Les essais de relargage en batch

sont réalisés dans un réacteur à digestion anaérobie d'une contenance de 1.5 litres (figure 4.2). Le mélange complet dans ce réacteur est obtenu à l'aide d'une agitation par barreau magnétique.

Afin de garder des conditions strictement anaérobie pour la liqueur mixte, le réacteur à digestion est relié à une source d'azote gazeux qui va remplacer chaque volume de liqueur mixte que l'on soutire pendant le prélèvement de chaque échantillon.

Pour chaque essai en batch de relargage, 300 ml de boues bio-P sont prélevées du système pilote de laboratoire (premier réacteur) à la fin de la séquence de décantation. Dans le réacteur à digestion, on ajoute à ces boues du substrat qui est fabriqué sous forme d'une eau usée synthétique exempte de phosphore et qui a la composition présentée au tableau 4.6. Toute cette série d'essais a été réalisée à la température de  $20\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ .

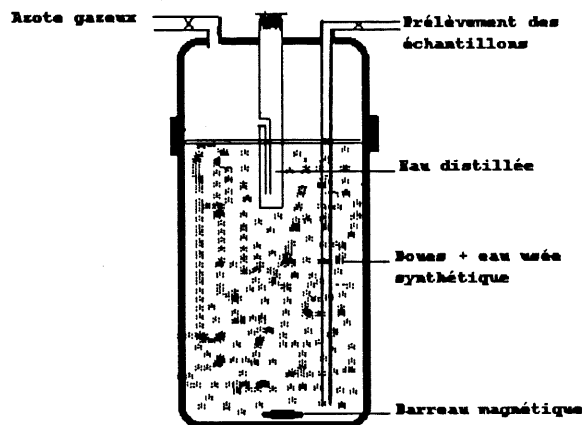


Fig. 4.2. Réacteur à digestion anaérobie utilisé pour les essais de relargage.

L'acétate y est aussi ajouté comme acide gras volatil (AGV) en utilisant l'acétate de sodium. Les concentrations d'AGV (acétate) considérées qui ont été mesurées au début de chaque essai de relargage en présence de l'eau usée synthétique, sont présentées dans le tableau 4.7. Pour chaque palier de concentrations en AGV (acétate) deux essais de relargage ont été réalisés.

Tableau 4.6. Composition de l'eau usée synthétique utilisée pour les essais de relargage.

Produit	Concentration (mg/L d'eau distillée)
$C_{12}H_{22}O_{11}$	500
$NH_4Cl$	30
$KCl$	25
$CaCl_2$	25
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	92.5
$MnSO_4 \cdot H_2O$	5
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	12.5
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	2.5
$Zn(C_2H_3O_2)_2 \cdot 2H_2O$	2.5
$CH_3COONa \cdot 3H_2O$	variable

Pour chaque essai, les boues bio-P sont mises en contact avec de l'eau usée et une concentration d'AGV (acétate), puis agitées dans une ambiance anaérobie pendant un laps de temps pour prélever après 150 ml d'échantillon de liqueur mixte afin d'analyser les MVS et le phosphore total dans les boues. Dans le surnageant de l'échantillon on détermine les nitrates, la concentration en AGV et le phosphore total. Une période d'anaérobiose de 1.0 heure commence juste après ce prélèvement. L'exposition de la biomasse à des conditions d'anaérobiose pendant cette période de 1.0 heure, en présence du substrat et de la concentration en nitrates initialement mesurée permet de réaliser la dénitrification pour préparer la biomasse bio-P à des conditions strictement anaérobies en éliminant ainsi toute possibilité de présence de conditions d'anoxie lors de l'essai de relargage du phosphore. À la fin de cette période de 1.0 heure, on prélève un échantillon de liqueur mixte de 50 ml pour lequel on analyse la concentration en AGV, les nitrates, et le phosphore total. Les concentrations en AGV (pour chaque type d'AGV : acétate, propionate, butyrate et valérate) sont mesurées par chromatographie en phase gazeuse (CPG) selon la procédure décrite dans l'annexe 1. Les concentrations en AGV quantifiées par CPG

pour chaque type d'AGV sont transformées en équivalent de DCO selon la procédure de calculs décrite dans l'annexe 8.

Tableau 4.7. Concentrations en AGV et en phosphore mesurées au début de chaque essai de relargage.

Identification de l'essai	Concentration en AGV au début de l'essai (mg DCO/L)	Phosphore total mesuré dans les boues au début de l'essai (mg P/L)	Biomasse X (mg MVS/L)
RA1	10.8	179.9	4476
RB1	12.1	190.0	4612
RA2	23.8	197.4	4861
RB2	26.2	183.8	4483
RA3	55.2	176.4	4454
RB3	52.9	183.8	4528
RA4	103.1	210.6	5125
RB4	105.6	196.4	4910
RA5	165.2	178.1	4476
RB5	164.8	203.5	4892
RA6	202.6	207.6	5028
RB6	205.3	200.8	4995

Après la période de dénitrification, l'agitation des boues bio-P avec le substrat est assurée dans des conditions d'anaérobie stricte et à chaque intervalle de temps d'au moins une demi-heure, un prélèvement d'échantillon de 25 ml de liqueur mixte est effectué pour analyser le phosphore total dans le surnageant, et ce au cours de la période restante de 6 heures pour compléter la durée totale de 7.0 heures de l'essai de relargage.

Durant une période d'anaérobie de 7.0 heures, nous avons remarqué qu'en moyenne au bout de 7.0 heures d'anaérobie la quantité de phosphore relarguée dans la solution, au bout de chaque intervalle de temps, atteint une valeur plateau qui reste quasiment constante même si l'état d'anaérobiose est encore maintenu au delà d'une période plus importante et supérieure à 7.0 heures.

Le relargage maximum a été obtenu pour une concentration moyenne en AGV de 165 mg DCO/L. Nous avons alors retenu cette concentration en acide gras volatils pour réaliser des essais en batch à des températures variables tout en gardant la concentration en AGV ajoutée autour de cette valeur pour réaliser cette série d'essais. Les températures utilisées et les concentrations moyennes en AGV mesurées au début de chaque essai, sont données dans le tableau 4.8. Il faut noter que pour chaque température, et pour les autres essais avec le changement des concentrations en AGV, les essais ont aussi été réalisés en duplicata pour chaque gamme de température. Les essais de relargage ont été conduits dans une chambre à température contrôlée pour la gamme de température 5, 10, et 15 °C, et dans un bain thermostaté pour les essais réalisés à 20 et 25 °C. Les précisions sur la mesure de température sont de  $\pm 0.5$  °C pour la chambre à température contrôlée et de  $\pm 1$  °C pour le bain thermostaté.

Tableau 4.8. Conditions d'essais pour l'étude de l'influence de la température sur le relargage du phosphore.

Identification de l'essai	Température de l'essai (°C)	Concentration en AGV au début de l'essai (mg DCO/L)	Phosphore total mesuré dans les boues au début de l'essai (mg P/L)	Biomasse X (mg MVS/L)
TA1	25	165.1	217.8	5043
TB1	25	168.2	201.6	4892
TA2 $\equiv$ RA5	20	165.2	178.1	4476
TB2 $\equiv$ RB5	20	164.8	203.5	4892
TA3	15	167.0	208.4	4985
TB3	15	166.5	190.9	4702
TA4	10	166.8	190.8	4770
TB4	10	163.9	180.9	4298
TA5	05	164.0	179.4	4495
TB5	05	167.8	199.9	4925

Afin de déterminer l'ordre de la réaction du relargage des polyphosphates sous des conditions d'anaérobie stricte, nous avons procédé aussi à des essais suivant la même procédure décrite ci-dessus en utilisant les concentrations en AGV (acétate) mesurées au début de chaque essai, et qui ont été rassemblées dans le tableau 4.9. Pour chaque concentration en AGV les essais ont été réalisés en duplicata. Pour quantifier les polyphosphates que la biomasse relargue, nous analysons cette fois le phosphore total dans les boues bio-P au bout de chaque intervalle de temps où le prélèvement a été fait. Tous ces essais ont été réalisés à la température de  $20 \pm 1$  °C.

Tableau 4.9. Conditions de réalisation des essais de relargage pour la détermination de l'ordre de la réaction de relargage des polyphosphates.

Identification de l'essai	Concentration en AGV mesurée au début de l'essai (mg DCO/L)	Phosphore total mesuré dans les boues au début de l'essai (mg P/L)	Biomasse X (mg MVS/L)
OA1	8.5	191.9	4720
OB1	9.1	193.0	4695
OA2	66.5	180.8	4464
OB2	67.2	188.4	4686
OA3	164.5	184.9	4610
OB3	166.5	177.9	4825
OA4	202.5	182.3	4613
OB4	200.9	185.6	4640
OA5	252.5	176.9	4346
OB5	255.2	173.5	4171

#### 4.4.5. Influence des métaux lourds ( $\text{Cr}^{3+}$ , $\text{Cr}^{6+}$ , Cu et Pb) sur l'EBP

Les conclusions de l'étude de l'optimisation de la période nécessaire au développement de l'EBP (section 4.4.3) sont utilisées ici pour l'étude de l'influence de ces métaux lourds sur l'EBP et sur les cinétiques de relargage et d'utilisation de phosphore au cours d'un cycle de traitement. Nous



nous sommes intéressés aux cations métalliques  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ , et  $\text{Pb}^{2+}$ , du fait que dans la littérature peu d'investigations ont été réalisées pour l'étude de l'influence de ces métaux sur les cinétiques d'enlèvement biologique du phosphore.

Pour chaque métal à étudier parmi les cations  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ , et  $\text{Pb}^{2+}$ , les boues activées ramenées de la station d'épuration de la ville de Magog sont introduites, après avoir été concentrées, dans le deuxième réacteur, puis inoculées avec 300 ml de boues bio-P provenant du premier système et les conditions de traitement utilisées sont semblables à celles décrites dans la section 4.4.3.

Après avoir obtenu une stabilité de l'EBP dans le deuxième réacteur, équivalente à celle qui existe dans le premier réacteur qui sert comme système de contrôle, on choisit un cation métallique pour lequel on fixe une gamme de concentrations dans lesquelles on cherche à étudier leur effet sur les bactéries bio-P.

Pour chaque concentration de cation métallique, et pour chaque métal, on fabrique une solution suffisamment concentrée à partir d'un produit chimique de qualité ACS de telle sorte à avoir la concentration en métal voulue une fois que l'affluent est pompé dans le deuxième réacteur. Une pompe péristaltique servira à doser la concentration en métal voulue dans le réacteur. Les produits chimiques utilisés pour fabriquer les solutions contenant les cations de métaux lourds pour lesquels on veut étudier leur influence sur les bactéries bio-P, sont donnés dans le tableau 4.10.

Avant de commencer à procéder à l'inhibition des bactéries bio-P, le cycle de traitement précédant l'ajout d'une concentration de cation métallique est contrôlé. Après 11 cycles de fonctionnement de ce réacteur avec cette concentration de métal, on procède au contrôle du comportement des bactéries bio-P au 12<sup>ème</sup> cycle. Le choix du 12<sup>ème</sup> cycle pour contrôler le comportement des bactéries provient des constatations que nous avons fait au niveau de la stabilité du comportement du système en présence du  $\text{Cr}^{3+}$ . Nous avons alors adopté la même méthodologie pour les autres métaux. Ainsi des prélèvements de liqueur mixte sont effectués au cours de ce cycle avec des intervalles de temps pouvant parfois dépasser une demi-heure.

Tableau 4.10. Produits chimiques utilisés pour étudier l'influence des métaux lourds sur l'EBP.

Cation métallique considéré	Produit chimique utilisé
Chrome trivalent $\text{Cr}^{3+}$	Chlorure de chrome $\text{Cr Cl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$
Chrome hexavalent $\text{Cr}^{6+}$	Chromate de potassium $\text{K}_2 \text{Cr O}_4$
Cuivre cuivrique $\text{Cu}^{2+}$	Sulfate cuivrique $\text{Cu SO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$
Plomb $\text{Pb}^{2+}$	Acétate de plomb $\text{Pb}(\text{C}_2 \text{H}_3 \text{O}_2)_2 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$

Sur les échantillons ainsi prélevés des analyses sont effectuées pour mesurer:

- directement dans la liqueur mixte du réacteur; le pH et parfois l'oxygène dissous. Cependant les MES, et les MVS sont analysées au début du cycle.
- dans le surnageant de l'échantillon prélevé; les orthophosphates, la DCO, le COT, le TKN, et la concentration en métal.
- dans les boues décantées à la fin du cycle; la concentration en métal.
- dans l'affluent et l'effluent; les orthophosphates, la DCO, le COT, le TKN.
- dans la solution concentrée en cation métallique; la concentration en métal.

Les mêmes analyses sont aussi réalisées dans le premier réacteur qui ne recevait aucune concentration en cation métallique. Ainsi ce réacteur servira comme système de contrôle, afin d'évaluer l'importance d'inhibition causée par chaque concentration en cation métallique sur les bactéries bio-P du deuxième système.

Pour les métaux étudiés les gammes de concentrations théoriques en métal dont on a étudié l'effet sur l'EBP sont présentées dans le tableau 4.11.

Tableau 4.11. Métaux étudiés avec les gammes de concentrations théoriques considérées.

Cation métallique	Gamme de concentrations choisies (mg/L)
Cr <sup>3+</sup>	0.0-0.5-2.0-5.0-7.0-15.0-25.0-35.0-Arrêt [0]
Cr <sup>6+</sup>	0.0-0.5-2.0-5.0-7.0-15.0-20.0-25.0- Arrêt [0]
Cu <sup>2+</sup>	0.6-2.0-5.0-10.0-20.0-50.0-70.0- Arrêt [0]
Pb <sup>2+</sup>	0.0-0.5-1.0-8.0-15.0-30.0-80.0-100.0- Arrêt [0]

Pour tous ces cations métalliques, on a commencé d'abord par étudier l'effet d'une concentration faible et on a augmenté au fur et à mesure cette concentration jusqu'à ce qu'on remarquait la détérioration complète de l'efficacité d'enlèvement du phosphore. Puis on arrêtait complètement l'ajout de ces métaux pendant au moins 14 cycles de traitement qui suivaient immédiatement l'inhibition, et on contrôlait les paramètres énumérés ci-avant pendant le 15<sup>ème</sup> cycle, c'est ce qu'on appelé ici dans le tableau 4.11. "Arrêt [0] ". Cette série d'essais a été réalisée afin de vérifier si la biomasse bio-P pourrait reprendre ses habitudes d'EBP et de quantifier sa façon de se comporter après un effet choc d'inhibition par chacun des cations métalliques considérés.

Quand il s'agit de passer à l'étude de l'influence d'un nouveau métal, les boues du deuxième système sont complètement éliminées. Puis le réacteur et tous ses accessoires qui étaient en contact avec les concentrations du métal qui vient d'être étudié, sont bien nettoyés en utilisant de l'acide nitrique 10% et de l'eau déionisée.

#### 4.4.6. Étude du rôle du glycogène dans l'EBP

Afin d'évaluer l'importance du glycogène dans la biomasse bio-P des systèmes d'EBP, nous avons conduits des essais en batch sous des conditions anaérobies en utilisant deux sortes de

boues activées acclimatées chacune à des substrats différents dans des RBS. Ces substrats sont différents uniquement au niveau de la concentration en phosphore dans l'affluent du RBS .

La première série d'essais en batch a été conduite en utilisant les boues activées bio-P développées dans le premier système RBS qui est alimenté par le substrat à base d'un mélange de succrose, d'acétate de sodium et de bacto-peptone (composition d'EUS présentée au tableau 4.2). Les performances de ce système sont discutées dans la section 5.1.

Pour cette série d'essais et pour chaque essai en batch qui a été réalisé dans ces conditions, on utilise 300 ml de boues activées bio-P qui sont prélevées du système RBS à la fin de la période de décantation. Dans le réacteur à digestion (figure 4.2), que nous avons utilisé pour les études de relargage du phosphore, on ajoute à ces boues activées bio-P une source de carbone fabriquée à l'aide d'un produit chimique solubilisé dans l'eau déionisée. Les produits chimiques utilisés comme sources de carbone sont : succrose seul, acétate de sodium seul, et un mélange d'acétate de sodium et du succrose. Ainsi les concentrations en acétate de sodium et en succrose utilisées dans la réalisation de toutes cette série d'essais, et les concentrations en carbone organique totale mesurées au début de chaque essai sont données dans le tableau 4.12.

Tableau 4.12. Concentrations en COT utilisées dans la première série d'essais en batch pour l'étude du comportement du glycogène dans l'EBP.

Identification de l'essai	Source de carbone	Concentration en acétate de sodium (g/L)	Concentration en succrose (g/L)	COT au début de l'essai (mg C/L)
I.S1	succrose	0	0.58	246.3
I.S2	succrose	0	0.55	228.6
I.A1	acétate	1.35	0	234.2
I.A2	acétate	1.42	0	250.5
I.(S+A)1	succ. + ac.	0.68	0.30	246.4
I.(S+A)2	succ. + ac.	0.64	0.28	228.5

Le réacteur à digestion est opéré dans les conditions anaérobies, selon la même procédure utilisée dans les études de relargage du phosphore (section 4.4.4). Tout au début de chaque essai en batch, après un mélange vigoureux des boues bio-P avec la solution du substrat de carbone ou l'eau déionisée selon le cas, on prélève un volume de 150 ml de liqueur mixte du réacteur à digestion, pour analyser les MVS, le phosphore total, le glycogène, et les PHB dans les boues. Dans le surnageant de l'échantillon prélevé, on analyse les orthophosphates, et le COT.

Les caractéristiques des boues bio-P prélevées tout au début de chaque essai sont compilées dans le tableau 4.13.

Tableau 4.13. Caractéristiques initiales des boues bio-P utilisées pour la première série d'essais en batch pour l'étude du rôle du glycogène dans l'EBP.

Identification de l'essai	MVS (mg MVS/L)	Contenu en phosphore (mg P/g MVS)	Contenu en glycogène (mg Glucose/g MVS)	Contenu en PHB (mg HB/g MVS)
I.S1	4680	39.1	10.0	26.1
I.S2	4800	40.6	10.1	28.8
I.A1	4730	39.7	10.3	24.9
I.A2	4590	41.5	11.7	27.2
I.(S+A)1	4810	40.9	10.8	24.9
I.(S+A)2	4740	41.8	9.8	23.6

Chaque essai dure 6 heures sous des conditions d'anaérobie stricte, et au bout de chaque intervalle de temps, un volume de 50 ml de liqueur mixte pour analyser les orthophosphates et le COT dans le surnageant. Le glycogène, et les PHB sont analysés dans les boues décantées de l'échantillon. On notera aussi que tous ces essais ont été réalisés à la température de la pièce  $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Pour la deuxième série d'essais en batch, la biomasse utilisée pour évaluer l'importance du glycogène dans les boues activées a été développée dans le deuxième réacteur RBS. Cette

biomasse développée dans ce deuxième système a été acclimatée à un substrat d'EUS qui à la composition présentée au tableau 4.2 excepté pour le phosphore dont la concentration a été réduite pour défavoriser l'accumulation du phosphore par la biomasse et une faible concentration en phosphore a été fournie dans l'affluent pour servir le métabolisme normal de boues activées. Ainsi la concentration en phosphore dans l'affluent fournie à ce système est en moyenne de 2.3 mg P/L. Ce réacteur a étéensemencé par des boues bio-P provenant du premier système combinées à des boues de la station d'épuration de la ville de Magog et est opéré suivant les mêmes séquences d'opération que le premier système. La procédure d'ensemencement utilisée est celle décrite dans la section 4.4.3, en utilisant un inoculum de 12%. La moyenne des concentrations en matières volatiles en suspension mesurée dans ce deuxième système durant toute la période d'acclimatation est de 3730 mg MVS/L. Ce deuxième système a été mis en marche pendant deux mois pour atteindre la stabilité dans l'efficacité de traitement. Les caractéristiques moyennes de l'affluent et l'effluent obtenues après la période d'acclimatation sont données dans le tableau 4.14.

Tableau 4.14. Caractéristiques de l'affluent et l'effluent dans le deuxième système acclimaté à une EUS faible en phosphore.

Paramètres	Affluent	Effluent
DCO (mg /L)	690 ± 67	25 ± 8
COT (mg C/L)	236 ± 43	8 ± 4
TKN (mg N/L)	29.3 ± 2.6	2.8 ± 0.8
P tot. (mg P/L)	2.3 ± 0.4	0.8 ± 0.2

Après cette période d'acclimatation au substrat, les boues provenant de ce deuxième système ont été utilisées pour conduire la deuxième série en batch dans des conditions similaires à celles de la première et les analyses effectuées durant chaque essai en batch sont identiques à celles effectuées lors de la première série d'essais.

Dans cette série d'essais les concentrations en sucrose et en acétate de sodium utilisées pour fabriquer le substrat, ainsi que les concentrations en COT analysées au début de chaque essai en batch sont données dans le tableau 4.15.

Tableau 4.15. Concentrations en COT utilisées dans la deuxième série d'essais en batch pour l'étude du comportement du glycogène dans la biomasse.

Identification de l'essai	Source de carbone	Concentration en acétate de sodium (g/L)	Concentration en sucrose (g/L)	COT au début de l'essai (mg C/L)
II.S1	sucrose	0	0.52	218.6
II.S2	sucrose	0	0.56	231.6
II.A1	acétate	1.40	0	246.1
II.A2	acétate	1.38	0	213.8
II.(S+A)1	succ. + ac.	0.66	0.28	233.8
II.(S+A)2	succ. + ac.	0.68	0.30	246.1

La caractérisation des boues activées acclimatées dans ce deuxième système est effectuée au début de chaque essai en batch de cette deuxième série d'essais. Ainsi les caractéristiques obtenues pour ces boues sont données dans le tableau 4.16. On notera aussi que cette deuxième série d'essais a été réalisée à des températures de la pièce :  $22 \pm 1$  °C.

Tableau 4.16. Caractéristiques initiales des boues utilisées pour la deuxième série d'essais en batch pour l'étude du rôle du glycogène dans l'EBP.

Identification de l'essai	MVS (mg MVS/L)	Contenu en phosphore (mg P/g MVS)	Contenu en glycogène (mg Glucose/g MVS)	Contenu en PHB (mg HB/g MVS)
II.S1	4780	17.2	181.7	29.1
II.S2	4570	17.7	172.2	27.6
II.A1	4630	17.9	174.5	27.3
II.A2	4790	18.1	180.0	24.2
II.(S+A)1	4590	18.2	168.9	27.9
II.(S+A)2	4640	17.4	173.9	26.2

#### **4.5. Méthodes analytiques**

Toutes les méthodes analytiques qui ont été appliquées dans les analyses de laboratoire pour les essais effectués aussi bien dans le réacteur RBS que pour les essais en batch sont décrites dans l'annexe 1.



## 5. ANALYSE ET EXPLOITATION DES RÉSULTATS

En se basant sur les expériences et analyses effectuées et qui ont été décrites dans le chapitre 4, ce présent chapitre expose les résultats obtenus. Toutes les analyses ont été réalisées en réplicats de deux ou parfois de trois échantillons et les valeurs considérées pour le traitement des données sont les moyennes sur les valeurs des réplicats de chaque paramètre.

### 5.1. Développement de l'EBP dans un RBS

L'opération du RBS dans les conditions décrites au chapitre 4 avec le suivi de différents paramètres a permis de contrôler le comportement des bactéries bio-P et tout autres micro-organismes pendant une période dépassant une année de fonctionnement. Ainsi on a utilisée la notion d'efficacité d'enlèvement pour un paramètre donné tels que la DCO, le COT, le TKN, l'ammoniac, le  $P_t$ , le  $PO_4$ . Cette efficacité est déterminée comme étant le ratio de la différence des concentrations à l'affluent et à l'effluent par rapport à la concentration à l'affluent.

#### 5.1.1. Efficacité d'enlèvement du carbone

La figure 5.1.a. représente les évolutions moyennes journalières de la DCO dans l'affluent et l'effluent et la figure 5.1.b., elle représente l'efficacité d'enlèvement de la DCO par la biomasse. Globalement pour une période de suivi et de fonctionnement de 270 jours du réacteur, on a obtenu une efficacité d'enlèvement de la DCO autour de 97.1%, avec une concentration moyenne à l'effluent de 21.7 mg DCO/L. Cependant il aurait fallu une période d'environ trois semaines pour que les bactéries hétérotrophes s'acclimatent au substrat d'eau usée synthétique, et aussi pour produire un effluent d'une concentration inférieure ou égale à cette concentration moyenne.

Les figures 5.2.a. et 5.2.b. représentent les évolutions journalières moyennes des concentrations en COT à l'affluent et à l'effluent, et le pourcentage d'abattement du COT. On remarque que les bactéries hétérotrophes dégradent le substrat avec une moyenne sur le rendement de traitement de 96.4% pour fournir un effluent ne contenant que 8.2 mg C/L.

Dans les deux cas, aussi bien pour la DCO que pour le COT, les bactéries hétérotrophes ont pu produire un effluent de très bonne qualité au niveau de l'enlèvement de la pollution carbonée après une dizaine de jours à partir du démarrage du système. En conséquence leur acclimatation à une nouvelle source de carbone et à de nouvelles conditions favorables à l'abattement de la pollution carbonée (séquence anaérobie/aérobie), s'avère très rapide.

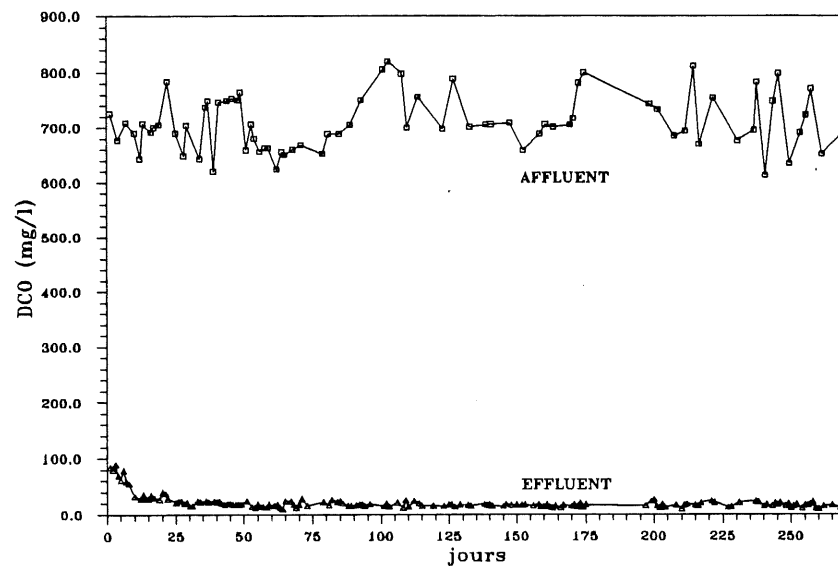


Figure 5.1.a. Évolution de la DCO à l'affluent et à l'effluent dans le RBS.

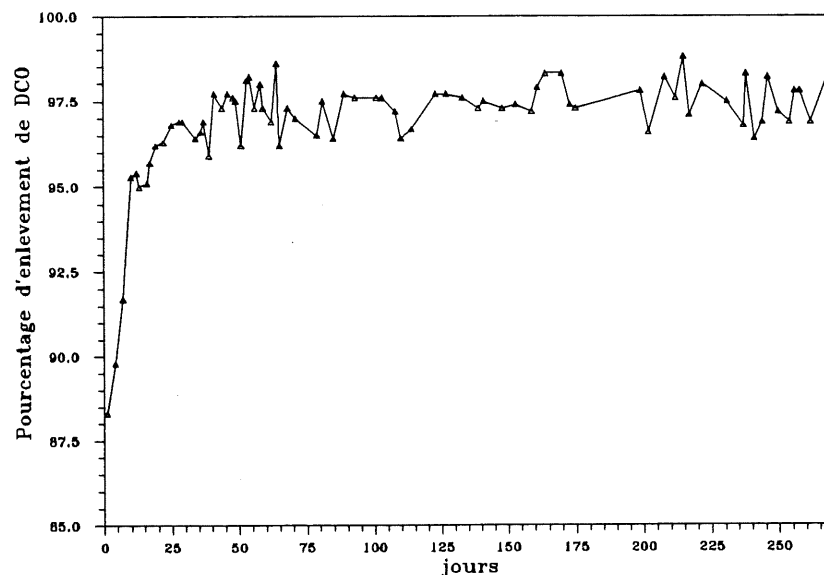


Figure 5.1.b. Efficacité d'enlèvement de la DCO par le RBS.

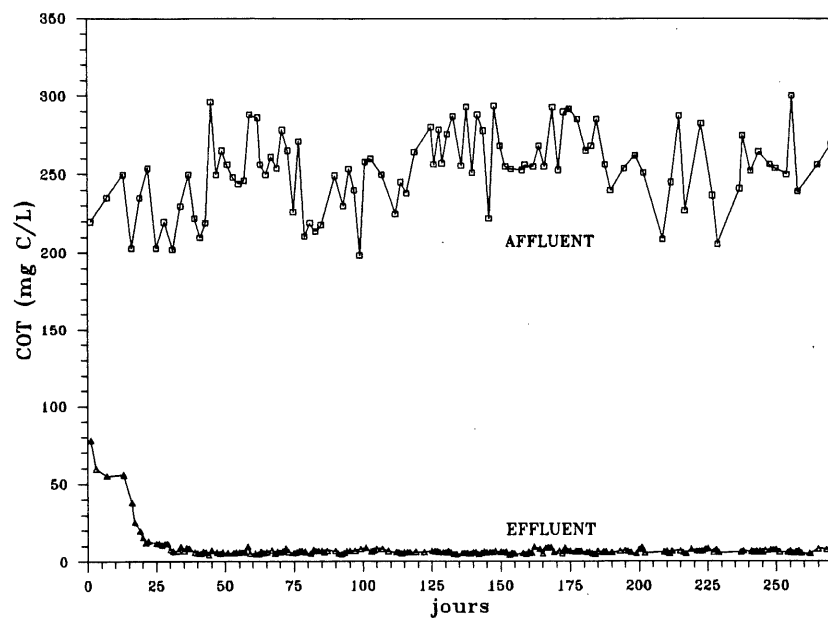


Figure 5.2.a. Évolution du COT à l'affluent et à l'effluent dans le RBS.

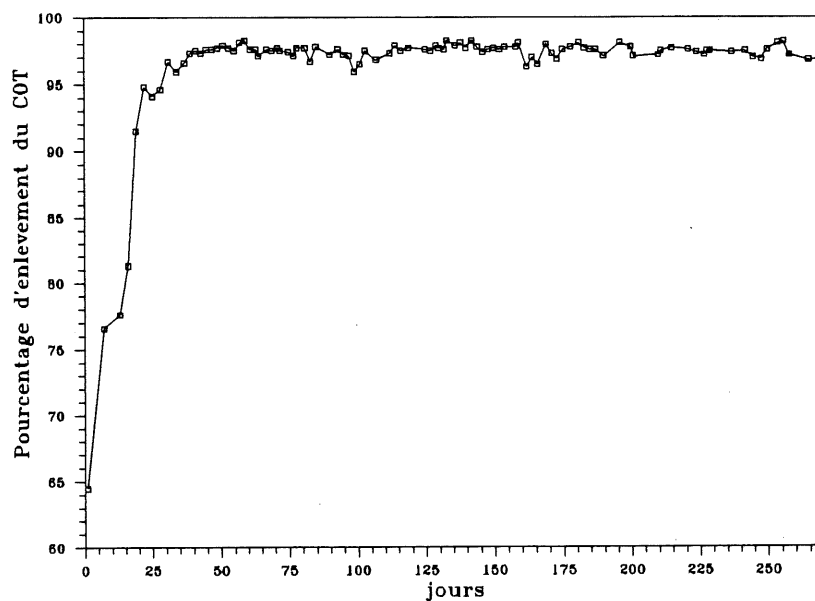


Figure 5.2.b. Évolution de l'enlèvement du COT par le RBS.

### 5.1.2. Efficacité d'enlèvement de l'azote

Après une période d'acclimatation de la biomasse au substrat d'environ trois mois à partir du démarrage du système, l'enlèvement de l'azote Kjeldhal atteint une efficacité moyenne de 91.7% (figure 5.3.b). Ainsi avec un affluent d'une concentration moyenne de 32.8 mg N/L, on produit un effluent avec 2.5 mg N/L de TKN (figure 5.3.a). Les figures 5.4.a. et 5.4.b. montrent la tendance du comportement de l'azote ammoniacal, cette tendance est similaire à celle du TKN. Cependant pour l'azote ammoniacal l'efficacité moyenne de son enlèvement par la biomasse est de 95%. Le suivi de l'évolution journalière de nitrates à l'affluent et à l'effluent (figure 5.5) confirme la période nécessaire à l'acclimatation de la biomasse au substrat et aux séquences d'opération du RBS.

Aussi ce n'est qu'après 40 jours de fonctionnement du système dans les conditions décrites au chapitre 4 que la nitrification a commencé à prendre de l'ampleur pour atteindre un comportement stable après trois mois de fonctionnement du réacteur depuis son démarrage. Pendant ces 40 premiers jours durant lesquels la nitrification n'est pas encore bien installée, l'efficacité de l'enlèvement de l'azote kjeldhal et ammoniacal est en moyenne égale à 60%. Ceci correspond à un rapport azote enlevé/DCO éliminée égal à 4%. Ce rapport est plus élevé que la valeur du rapport théorique des besoins en azote pour la croissance et la multiplication cellulaire estimés généralement à 2% de la DCO éliminée (Metcalf & Eddy, 1991). Cette surélimination doit en fait correspondre à l'azote utilisé pour la synthèse cellulaire et à l'azote éliminé par simple adsorption physique dans les flocs de boues activées. Ceci se justifie par le fait que les boues activées prélevées dans le réacteur, après un mois et demi de sa mise en marche, présentaient un pourcentage spécifique en azote de 14.7 % ( 0.147 mg N/mg MVS), alors que tout au début du fonctionnement du système les boues d'ensemencement ne contenait que 9.3% N rapporté à la MVS. Après avoir atteint une stabilité pour la nitrification-dénitrification, le système produit un effluent qui présente les concentrations moyennes suivantes au bout d'un cycle de traitement: 2.5 mg TKN-N/L, 0.8 NH<sub>3</sub>-N /L, et 10.5 mg NO<sub>3</sub>-N /L.

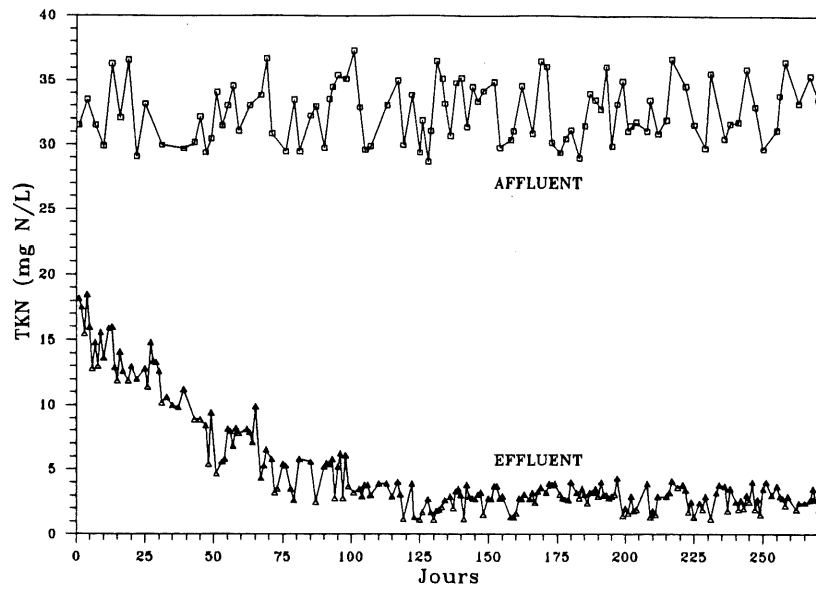


Figure 5.3.a. Évolution du TKN à l'affluent et à l'effluent dans le RBS.

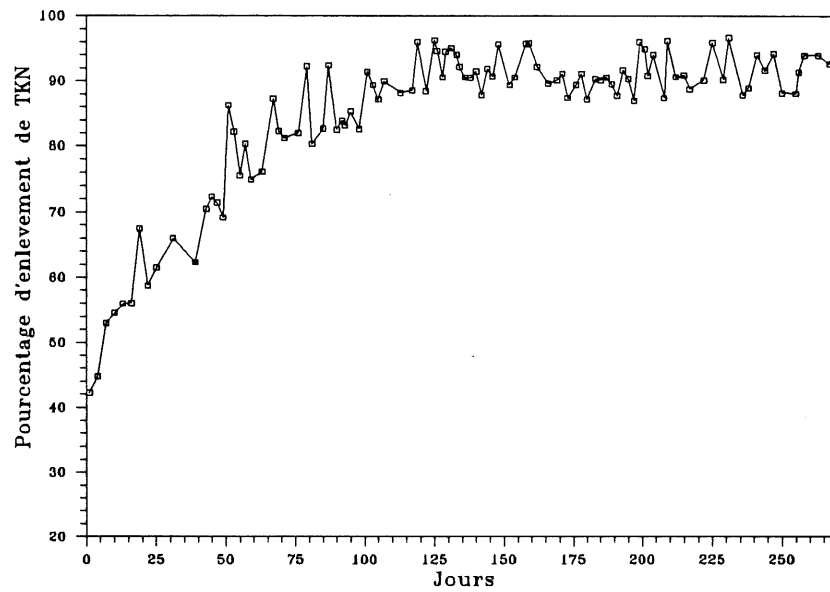


Figure 5.3.b. Efficacité d'enlèvement du TKN par le RBS.

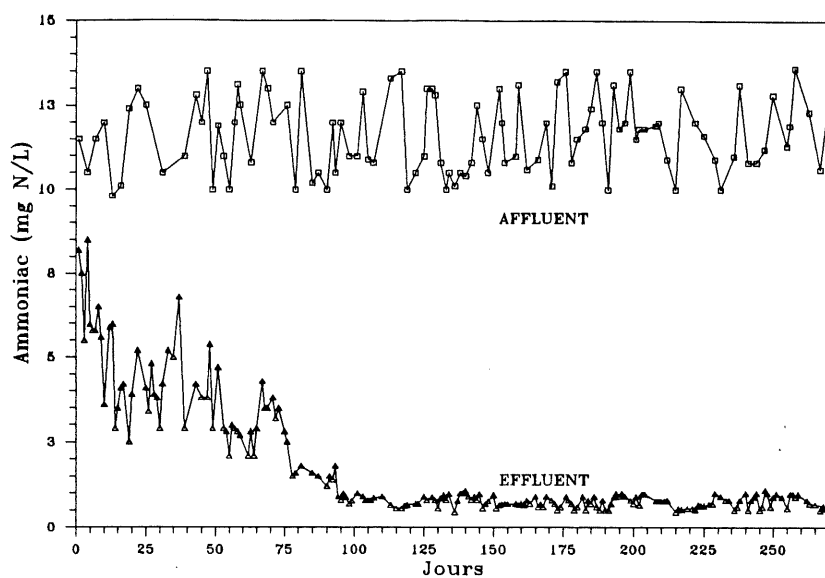


Figure 5.4.a. Évolution de l'ammoniac à l'affluent et à l'effluent dans le RBS.

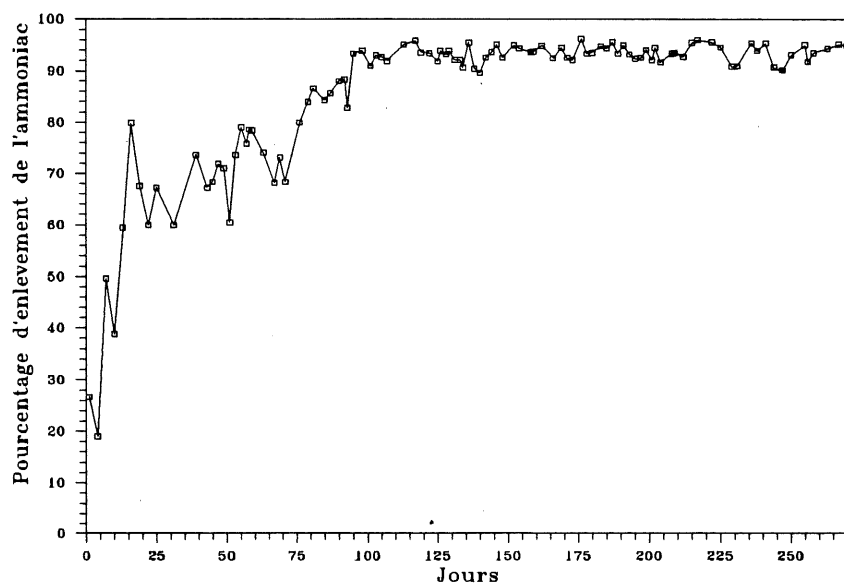


Figure 5.4.b. Efficacité d'enlèvement de l'ammoniac par le RBS.

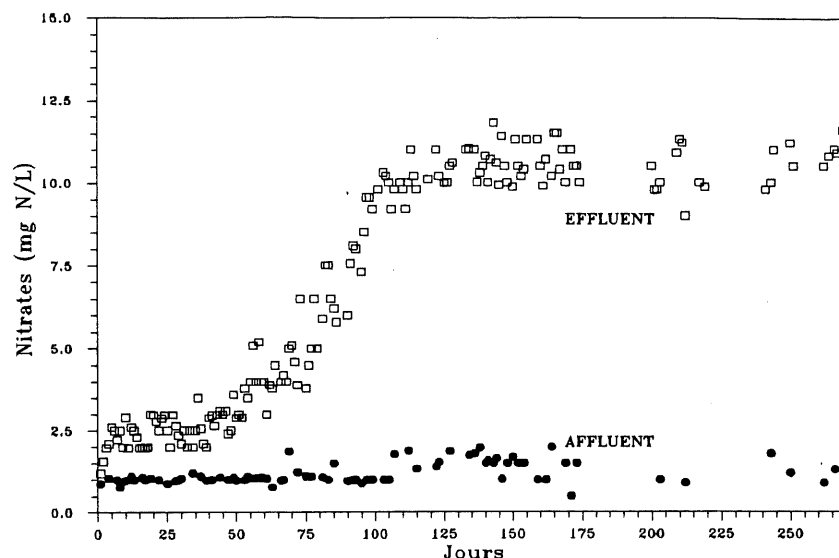


Figure 5.5. Évolution des nitrates à l'affluent et à l'effluent dans le RBS.

### 5.1.3. Efficacité d'enlèvement du phosphore

Les boues activées utilisées pour l'ensemencement du réacteur étaient essentiellement des boues activées conventionnelles contenant initialement en moyenne 0.0160 mg P/mg MVS (ou 1.6% P). L'affluent d'eau usée synthétique était composé principalement d'orthophosphates avec une concentration moyenne de 33.8 mg  $\text{PO}_4$  /L (11.0 mg P/L), et le phosphore organique contenu dans cette eau usée est moindre avec une concentration moyenne équivalente à 2.7 mg  $\text{PO}_4$  /L (0.9 mg P/L). Tout au début du démarrage du système, malgré une alternance de séquences anaérobie/aérobie, les bactéries ne pouvaient pas fournir un enlèvement excessif du phosphore contenu dans l'affluent. Ainsi ce n'est qu'après trois mois de fonctionnement du réacteur que la biomasse a commencé à fournir une efficacité d'enlèvement du phosphore supérieure à 50%. Ceci est valable aussi bien pour les orthophosphates (figure 5.6.b) que pour le phosphore total (figure 5.7.b). Après cette période de fonctionnement de trois mois à partir du démarrage du système, l'efficacité d'enlèvement du phosphore commençait à augmenter jusqu'à atteindre une valeur moyennement stable autour de 90%, cela après 150 jours de fonctionnement depuis la mise en marche du système.

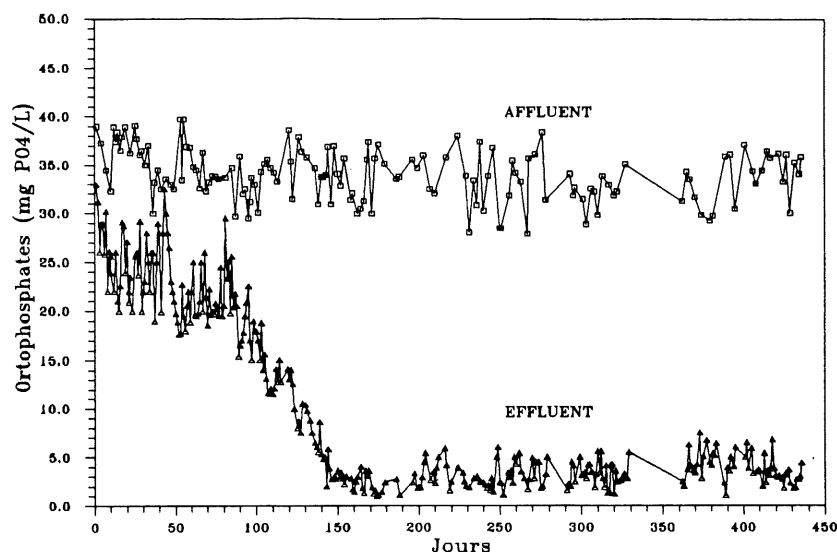


Figure 5.6.a. Évolution des orthophosphates à l'affluent et à l'effluent dans le RBS.

Quand le système a atteint sa stabilité, le développement des bactéries bio-P a été favorisé et elles étaient acclimatées au substrat. Ainsi, le suivi du système pendant 430 jours de fonctionnement a montré que l'on pouvait fournir un effluent de concentration moyenne de 3.10 mg PO<sub>4</sub>/L d'orthophosphates (figure 5.6.a) et de 4.2 mg PO<sub>4</sub>/L de phosphore total (1.3 mg P/L) (figure 5.7.a).

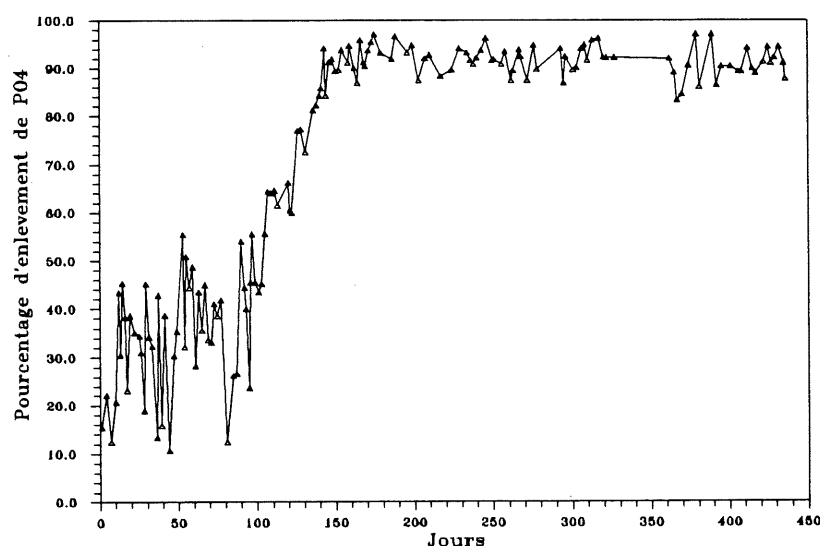


Figure 5.6.b. Efficacité d'enlèvement des orthophosphates par le RBS.



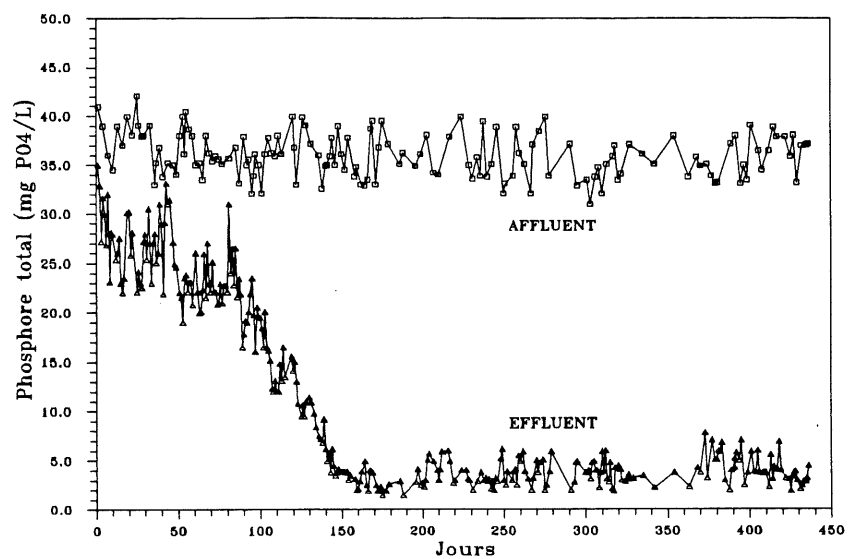


Figure 5.7.a. Évolution du phosphore total à l'affluent et à l'effluent dans le RBS.

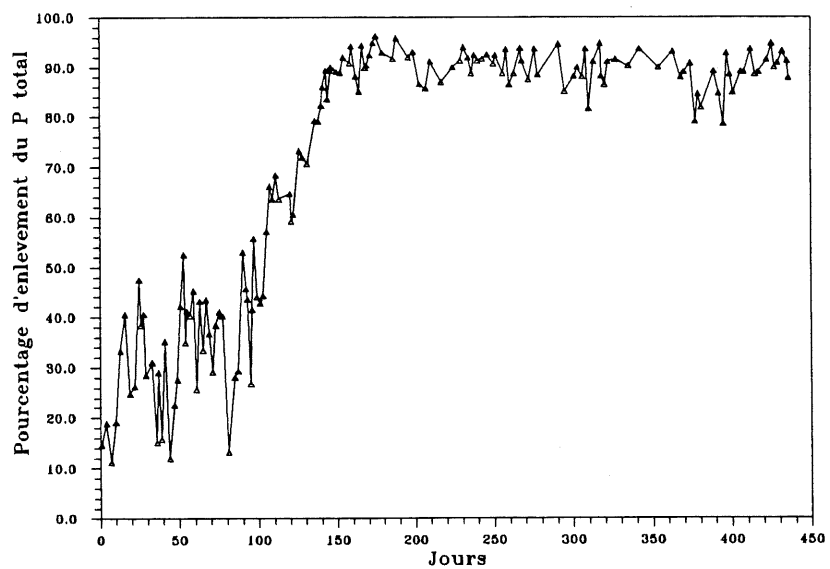


Figure 5.7.b. Efficacité d'enlèvement du phosphore total par le RBS.

L'analyse du contenu spécifique en phosphore des boues activées dans le système RBS, à la fin d'une séquence de décantation, durant cette période d'une année et demi depuis le démarrage du système, a montré que ce contenu spécifique en phosphore dans les boues du RBS a passé de 1.60% P (0.0160 mg P/ mg MVS) tout au début du démarrage du système RBS à 3.56% P au bout de 150 jours de fonctionnement (début de la stabilité du système). Au delà de cette période de 150 jours, les boues bio-P continuaient d'accumuler les polyphosphates pour atteindre quelquefois, une valeur maximale de contenu spécifique en polyphosphates de 4.23% P (figure 5.8).

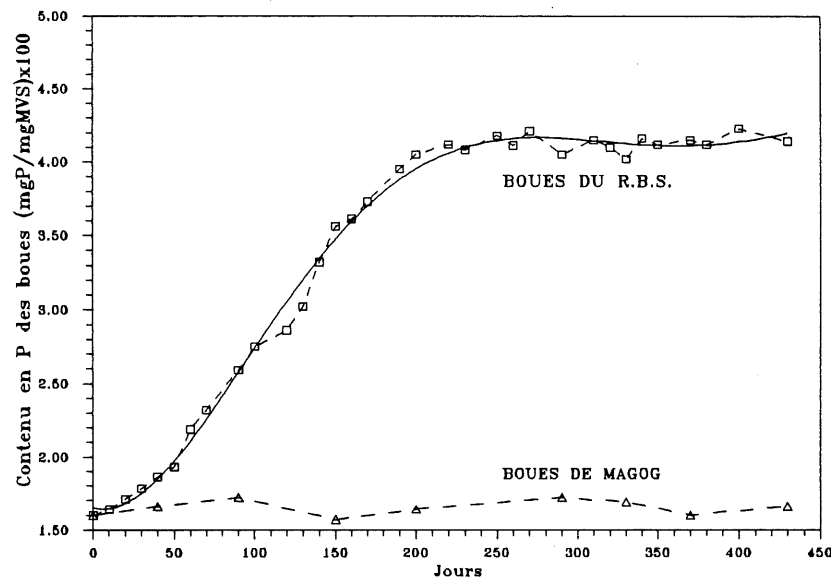


Figure 5.8. Contenu spécifique en phosphore des boues bio-P et des boues de Magog.

Le contenu spécifique en phosphore est aussi déterminé dans les boues activées échantillonnées d'une façon sporadique dans le bassin d'aération de la station d'épuration de Magog (figure 5.8). Cette figure montre que les bactéries bio-P du système RBS du laboratoire, dans ces conditions d'EBP et pour ce type de substrat utilisé, présentent une capacité maximale d'accumulation des polyphosphates qui n'a jamais pu être dépassée malgré le maintien de la stabilité du système pour une longue période. Cette capacité maximale est en moyenne autour de 0.0412 mg P/ mg MVS (ou 4.12% P). Nous définissons plus loin ce paramètre (section 5.5) par  $P_{\text{max}}/X$ , qui nous est apparu être un paramètre important dans l'étude de la cinétique du relargage et dans le développement du modèle de relargage du phosphore sous des conditions strictement anaérobies (section 5.5). Les analyses que nous avons réalisées sur les boues activées conventionnelles échantillonnées à Magog pour déterminer leur contenu spécifique en phosphore montrent que ce paramètre est autour d'une valeur moyenne de 1.65% P, une valeur 2.5 fois plus faible que la contenu spécifique maximal en phosphore des boues bio-P développées dans le RBS. Ceci confirme le fait que les micro-organismes présents dans les bassins d'aération d'une station d'épuration conventionnelle ne peuvent développer la capacité d'enlèvement biologique du phosphore que dans les conditions où ils sont soumis à une séquence de conditions anaérobie et aérobie.

Une comparaison des valeurs du contenu spécifique en phosphore déterminé dans les boues bio-P, après le développement de l'EBP, retrouvées dans la littérature est présentée dans le tableau 5.1. Les valeurs données par ce tableau comparées à celle obtenue par la présente étude montrent que le contenu maximal spécifique en phosphore que les boues bio-P peuvent présenter dépend du procédé d'EBP utilisé, de la qualité et la quantité du substrat contenu dans l'affluent, de la quantité du phosphore de l'affluent, des conditions d'opération du système, et du type de souches bactériennes bio-P développées dans le système.

Selon ce tableau nous remarquons que la valeur obtenue pour le contenu maximal spécifique en phosphore des boues bio-P développées dans nos expériences appartient aux extrêmes inférieures des valeurs présentées dans ce tableau mais nettement supérieure à la valeur moyenne du contenu spécifique en phosphore que présentaient les boues activées conventionnelles qui avaient servi à l'ensemencement du système lors de son démarrage; c'est à

dire des boues activées de Magog. Cependant malgré que le contenu maximal spécifique en phosphore de ces boues bio-P que nous avons développées appartient aux valeurs extrêmes inférieures rapportées dans la littérature, l'efficacité d'enlèvement biologique du phosphore dans le système est très satisfaisante avec un rendement moyen de 90%.

Cesh et al. (1993) ont pu atteindre une stabilité de leur système après quatre mois de mise en marche de leur réacteur. Après cette période ils ont développé des boues bio-P avec un contenu maximal spécifique en phosphore de 9.5% P, sachant que les boues activées qu'ils avaient utilisé pour l'ensemencement de leur système contenaient 2.8% P et provenaient d'un système d'EBP.

Yoon et al. (1990) n'ont pu développé les bactéries bio-P dans leur RBS qu'après six mois d'acclimatation des boues activées conventionnelles au substrat et aux conditions de fonctionnement du réacteur, et ils avaient obtenu des boues bio-P avec un contenu spécifique maximal en phosphore de 6.1% P en utilisant au départ une boue activée conventionnelle pour l'ensemencement contenant 2.4% P.

Tableau 5.1. Valeurs maximales du contenu spécifique en phosphore déterminées dans des boues bio-P.

Système de traitement	Origine des BA utilisées	Affluent (principale source de carbone)	Contenu spéc. en P (%P)	Référence
Procédé Bardenpho	STCBA	EUD	4.00*	Manning et al. (1985)
Procédé UCTM : Ana./Ano./Aéro.	SEBP	EUD + Acétate	4.80	Wareham et al. (1996)
Procédé UCT: Ana./Aéro.	STCBA	EUD + Acétate	5.50	Pokethitiyook et al. (1990)
Procédé pilote UCTM : Ana./Ano./Aéro.	SEBP	EUD + Acétate	3.40	Comeau et al. (1990)
Système en continue : Ana. → Aéro.	SEBP	EUS (H. ac. + H. pr. + Peptone)	8.20	Matsuo (1994)
RBS (Ana./Aéro.)	SEBP	EUS (Acétate + glucose)	11.00	Appeldoorn et al. (1992)
RBS (Ana./Aéro.)	STCBA	EUS (Acétate + glucose + peptone)	4.90	Carucci et al. (1994)
RBS (Ana./Aéro.)	STCBA	EUS (Glucose + polypeptone)	6.1	Yoon et al. (1990)
RBS (Ana./Aéro.)	SEBP	EUS (H. ac.)	9.50	Cech et al. (1993)
Essais en batch	SEBP	EUS (Acétate)	6.50	Kuba et al. (1994)
Essais en batch	SEBP	EUD	4.30	Arun et al. (1988)
Essais en batch	SEBP	EUS(glucose + polypeptone)	6.90	Somiya et al. (1988)
Essais en batch	SEBP	EUD + Acétate	6.10	Mamais et al. (1992)
RBS (Ana./Aéro.)	STCBA	EUS(Acétate+Succ. +Bactopeptone)	4.23	La présente étude

\* 4.00%P = 0.040 mg P/ mg MVS, BA: boues activées, EUS: eau usée synthétique, EUD: eau usée domestique, H. ac.: acide acétique, H. pr.: acide propionique, Succ.: succrose, Ana.: anaérobie, Aéro: aérobie, Ano.: anoxie, SEBP: système d'enlèvement biologique du phosphore, STCBA: système de traitement conventionnel de boues activées., UCT: procédé Université Cap Town., UCTM: procédé Université Cap Town modifié, RBS: réacteur biologique séquentiel.

La tendance de conclure qu'au cours d'un développement d'enlèvement biologique du phosphore dans un RBS les bactéries bio-P présentent la propriété d'accumuler les polyphosphates jusqu'à atteindre un contenu maximal spécifique en phosphore peut aussi être confirmée par les résultats des expériences d'Appeldoorn et al. (1992) en plus des résultats de nos expériences. Leurs expériences montrent qu'en utilisant pour l'ensemencement de leur système des boues bio-P ayant initialement un contenu spécifique en phosphore de 3.1% P, dans un pilote d'EBP alimenté par une EUS à base de glucose et d'acétate, ils ont pu atteindre une valeur stable du contenu maximal spécifique en phosphore dans les boues bio-P de leur RBS du laboratoire autour de 11% P au bout de six semaines de fonctionnement du réacteur. Une perturbation de leur système par la croissance d'une biomasse importante de bactéries nitrifiantes après 126 jours de fonctionnement a entraîné la diminution du contenu maximal spécifique en phosphore mesuré dans les boues à la fin de chaque période aérobie. Cette biomasse de bactéries nitrifiantes entraînait l'oxydation de l'ammoniac en nitrates qui se retrouvaient à la fin de la période aérobie en fortes concentrations qui compromettaient le relargage du phosphore en phase anaérobie. Toutefois le système a pu reprendre sa stabilité de fonctionnement au jour 250 quand les concentrations en nitrates se sont retrouvées être diminuées à la fin de la phase aérobie, et le contenu maximal en phosphore mesuré dans les boues se retrouve reprendre la valeur obtenue initialement (11% P) sans toutefois pouvoir augmenter considérablement au delà de 11% P.

## **5.2. Comportement dynamique des paramètres de contrôle dans le RBS**

Afin de connaître le comportement des bactéries bio-P vis à vis des pollutions carbonée, azotée et phosphorée, nous avons suivi les paramètres : DCO, COT, azote et phosphore au cours du temps pour étudier le comportement dynamique de ces micro-organismes au cours du temps durant un cycle de traitement dans le RBS.

### **5.2.1. DCO, COT**

Durant la période d'acclimatation à l'EBP, le comportement dynamique de la pollution carbonée durant plusieurs cycles de traitement a été suivi dans le RBS. Les figures 5.9 et 5.10 représentent

ce comportement pour la DCO et le COT respectivement pour les jours 10, 30, 150, et 210 du fonctionnement du système. En général, durant la période de développement des bactéries bio-P avant 150 jours environ, entre 50 et 60% de la DCO et entre 40 et 50% du COT sont consommés par la biomasse pendant la phase anaérobie du cycle de traitement. Quand le système a atteint son régime stable quant à l'EBP, la majeure partie de la DCO et du COT contenu dans l'affluent (plus de 80%) est assimilée par les bactéries durant la phase anaérobie et seulement moins de 10% de la pollution carbonée initiale peut être enlevée pendant la phase aérobie. Ceci est dû au fait que la biomasse bio-P dégradent le maximum du substrat initiale pour stocker des polymères intracellulairement lors de la phase anaérobie, et en phase aérobie elle utilise ces polymères pour fournir l'énergie nécessaire à sa croissance et en passant elle dégrade aussi le substrat organique restant ceci est confirmé aussi par les études de Wentzel et al. (1988).

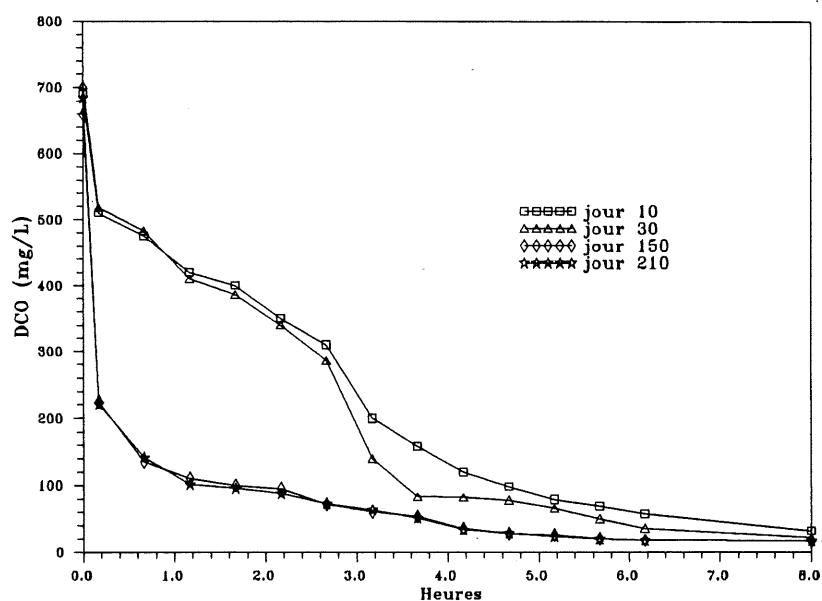


Figure 5.9. Comportement dynamique de la DCO pendant des cycles du RBS.

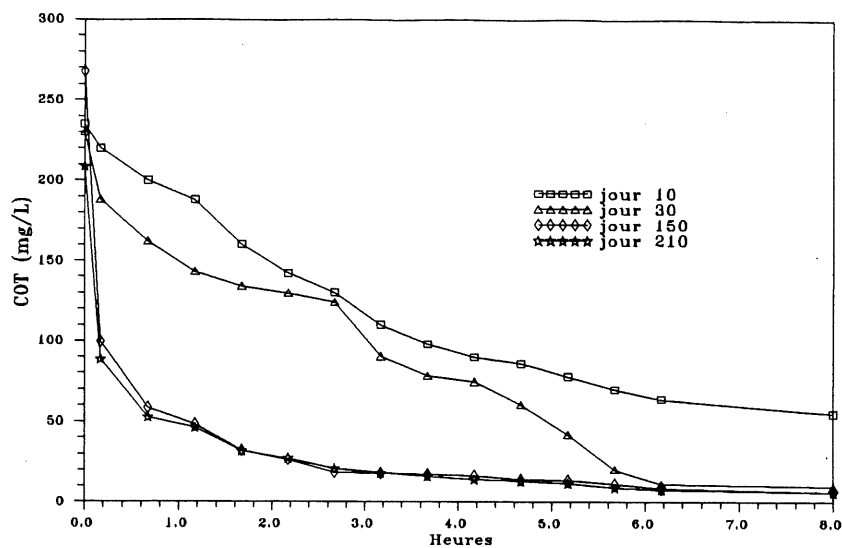


Figure 5.10. Comportement dynamique du COT pendant des cycles du RBS.

### 5.2.2. Azote

Les figures 5.11 et 5.12 montrent respectivement le comportement du TKN et du nitrate mesurés dans le surnageant de la liqueur mixte des échantillons prélevés à des intervalles de temps réguliers au cours de cycles de traitement dans le RBS.

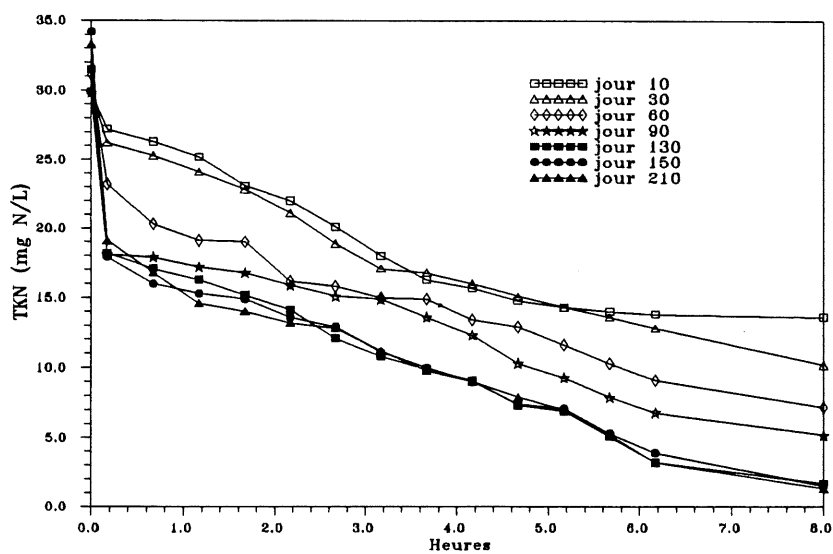


Figure 5.11. Comportement dynamique du TKN pendant des cycles dans le RBS.



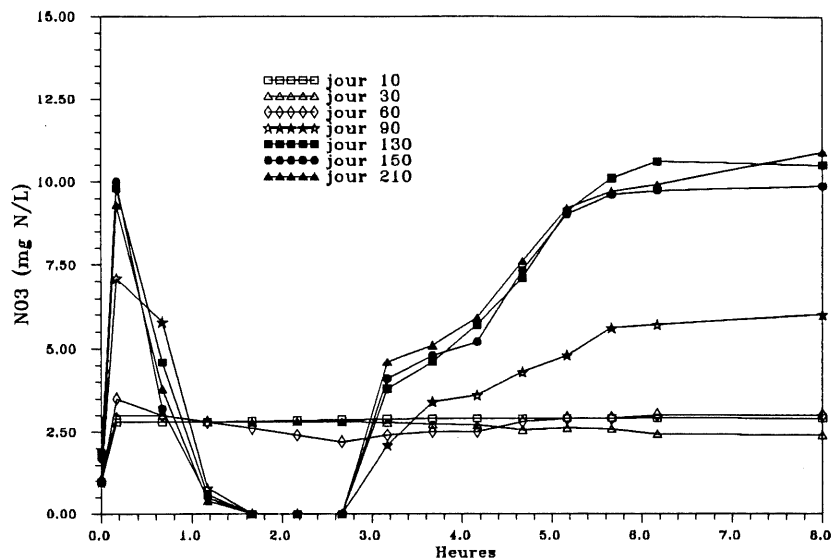


Figure 5.12. Comportement dynamique du nitrate pendant des cycles dans le RBS.

Durant les deux premiers mois depuis la mise en marche du système, aucune nitrification n'a eu lieu dans le RBS (fig. 5.12). Cependant le TKN a tendance à diminuer dans le surnageant au cours du cycle de traitement. Cet enlèvement d'azote est le résultat d'une simple adsorption physique de l'azote dans les flocs et cela permet aussi de répondre aux besoins de la synthèse cellulaire de la biomasse. Pendant cette même période, l'enlèvement du phosphore total est en moyenne autour de 30% d'efficacité (fig. 5.7.b) et le contenu en phosphore des boues n'atteignait que 1.78% P (fig.5.8), ceci est dû probablement à la limitation de la croissance des bactéries aérobies déphosphatantes par la consommation de l'azote.

Quand on a dépassé trois mois d'acclimatation de la biomasse au substrat et aux conditions de traitement dans le système, l'enlèvement de l'azote TKN devient relativement plus important. Ainsi lors de la phase anaérobie plus de 60% de l'azote organique initialement fourni au début du cycle disparaît en se transformant en partie en ammoniac et en étant utilisé par la biomasse facultative à des besoins de synthèse cellulaire et aussi en étant adsorbé sur les flocs de boues. Lors de la phase aérobie, plus de 33% d'azote Kjeldhal, qui est essentiellement sous forme ammoniacale est oxydé par les bactéries nitrifiantes en nitrates en suivant le comportement dynamique présenté dans la figure 5.12.

### 5.2.3 Phosphore

Le comportement dynamique des orthophosphates dans la liqueur mixte est montré sur la figure 5.13. On peut remarquer d'après cette figure qu'un relargage très minime du phosphore a commencé à avoir lieu après les deux premiers mois d'acclimatation de la biomasse. Aussi pendant ces deux premiers mois, on observait une utilisation du phosphore par la biomasse durant les deux phases anaérobie et aérobie. Cette utilisation a eu lieu pour subvenir aux besoins en phosphore des micro-organismes aussi bien facultatifs en phase anaérobie, qu'aérobies en phase aérobie.

Les ratios des quantités de phosphore relargué lors de la phase anaérobie par rapport au phosphore utilisé lors de la phase aérobie, par la biomasse bio-P, pour les cycles suivis sont donnés au tableau 5.2.

Tableau 5.2. Ratios: quantité de phosphore relargué par quantité de phosphore utilisé.

Jour de suivi du cycle depuis le démarrage du réacteur	$\Delta P$ relargué / $\Delta P$ utilisé (mg P/ mg P)
10	pas de relargage
30	pas de relargage
60	0.11
90	0.53
105	0.75
130	0.80
150	0.83
173	0.82
210	0.85
246	0.82

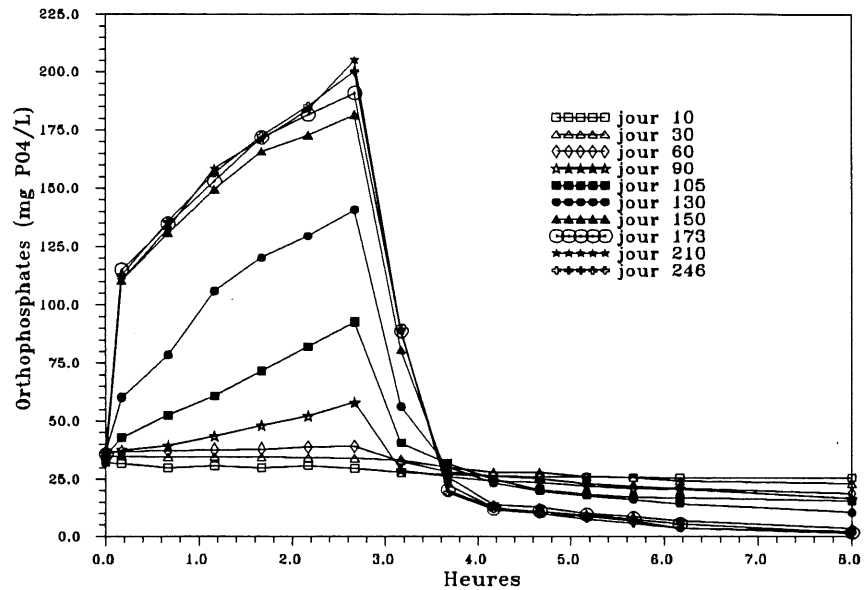


Figure 5.13. Comportement dynamique du  $\text{PO}_4$  pendant des cycles du RBS.

Le tableau 5.2. indique qu'un ratio de la quantité de phosphore relargué en phase anaérobie par rapport à la quantité de phosphore utilisé en phase aérobie supérieur à 0.80 était nécessaire pour avoir une efficacité d'enlèvement biologique du phosphore supérieure à 90%. Ce résultat est valable pour la période commençant après 150 jours de mise en marche du système. Selon la figure 5.13, après que le système a atteint sa stabilité quant à l'EBP, on notera que l'utilisation du phosphore par la biomasse bio-P commençait à avoir de l'ampleur immédiatement après le début de la phase aérobie. Ainsi au bout d'une heure seulement sous des conditions d'aération, entre 87 et 90% du phosphore relargué lors de la phase anaérobie se trouve déjà être utilisé par la biomasse bio-P. Cette utilisation de phosphore était amplifiée puisque la biomasse bio-P disposait d'une quantité importante de polymères intracellulaires (PHA) prête à être facilement oxydée avec la présence de la moindre quantité d'oxygène dissous, pour fournir l'énergie nécessaire à l'utilisation de ce phosphore présent dans la liqueur mixte.

La corrélation entre le phosphore spécifique relargué en phase anaérobie ( le phosphore relargué par rapport à la concentration de biomasse bio-P) et le phosphore spécifique utilisé en phase aérobie (le phosphore utilisé par rapport à la concentration de la biomasse) que nous avons

obtenu pour les journées où le comportement dynamique du phosphore a été suivi durant des cycles de traitement dans le RBS est présentée dans la figure 5.14.

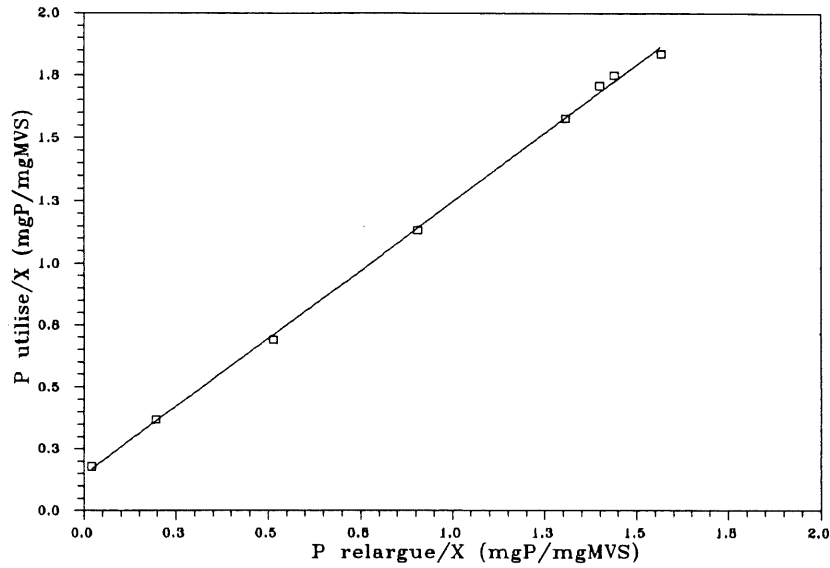


Figure 5.14. Corrélation entre le phosphore spécifique relargué en phase anaérobie et le phosphore spécifique utilisé en phase aérobie dans le RBS.

Cette corrélation est linéaire avec un coefficient de détermination  $R^2 = 0.99$  et suit la relation suivante avec  $a = 1.098$  et  $b = 0.147$  :

$$P_{sut.} = a \times (P_{srel.}) + b \quad (5.1)$$

avec :

$P_{sut.}$  : Phosphore spécifique utilisé , et  $P_{srel.}$  : Phosphore spécifique relargué.

Cette relation montre que l'enlèvement biologique du phosphore devient plus important quand le relargage en phase anaérobie est plus important. Dans ce sens, on peut retenir que lorsque la stabilité d'un système d'EBP est atteinte, tout le phosphore relargué durant la phase anaérobie est repris par la biomasse bio-P en plus du phosphore contenu dans l'affluent avec au moins un rapport de 110% du phosphore relargué. Il est bien connu que ce sont les AGV qui stimulent le relargage du phosphore, mais on ne peut pas avoir un taux de relargage qui pourra augmenter indéfiniment avec l'augmentation des concentrations en AGV, ceci est démontré par les essais

que nous présenterons dans la section 5.5. Ainsi la relation (5.1) ne pourra plus être valable au delà de certaines concentrations en AGV.

Si on combine les résultats obtenus avec d'autres retrouvés dans la littérature, on obtient aussi une corrélation linéaire, mais cette fois entre la concentration en phosphore relarguée et celle utilisée. La figure 5.15 représente la compilation de ces résultats.

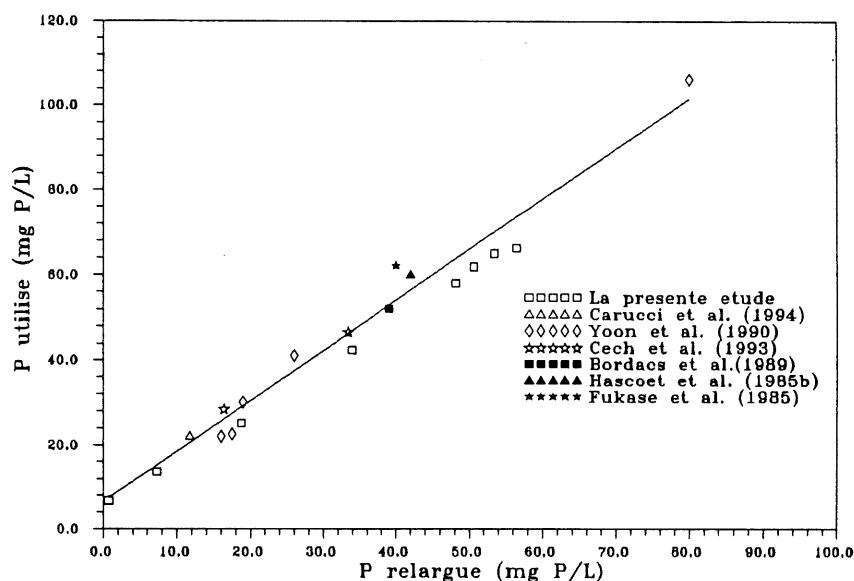


Figure 5.15. Corrélation entre phosphore relargué et phosphore utilisé par des biomasses bio-P.

D'autres relations ont été obtenues entre le relargage du phosphore en phase anaérobie et son utilisation en phase aérobie par la biomasse bio-P. Le tableau 5.3 donne les différents coefficients des régressions linéaires obtenus similaires à la relation (5.1).

Tableau 5.3. Coefficients de régressions linéaires entre P relargué et P utilisé.

Coefficient "a "	Coefficient "b "	Coefficient de détermination R <sup>2</sup>	Référence
1.098	0.147	99%	La présente étude (figure 5.14)
1.104	0.117	98%	La présente étude (figure 5.25)
1.186	6.596	94%	Figure 5.15.
1.075	5.568	97%	Wentzel et al. (1988).
1.033	0.225	91%	Helmer et al. (1996).
1.161	0.404	97%	Abu-Ghararh et al. (1991)

Pour les pentes "a " des régressions linéaires du phosphore relargué versus le phosphore utilisé, on remarque qu'en général les valeurs de ces coefficients sont très comparables pour les études antérieures et les valeurs que nous avons obtenues. Cela veut dire que le relargage du phosphore sous des conditions anaérobies est toujours corrélé à l'utilisation du phosphore sous des conditions aérobies quelque soit le système d'EBP utilisé et quelque soit le contenu spécifique en phosphore de la biomasse bio-P.

#### 5.2.4. Comportement dynamique des autres paramètres après la stabilité du système

Après que le système a atteint sa stabilité quant à l'EBP, nous avons suivi le comportement des paramètres de contrôle de la qualité de traitement biologique pendant le deuxième cycle d'une journée typique (jour 250). Les échantillons prélevés au bout de chaque intervalle de temps sont analysés pour déterminer dans le surnageant filtré et non filtré, conformément à la méthodologie décrite dans la section 4.4.2, la DCO, le COT, le TKN, l'ammoniac, les nitrates, le phosphore total, et les orthophosphates. Dans la liqueur mixte du réacteur on mesure directement la concentration en oxygène dissous, la température, le pH, et le potentiel d'oxydoréduction.

L'évolution de la pollution carbonée traduite par la DCO et le COT est présentée sur la figure 5.16. En général un grand pourcentage de cette pollution était déjà enlevé pendant la phase anaérobie. Au niveau du comportement de la biomasse vis-à-vis des fractions dissoute et suspendue du carbone, on remarque que c'est pour la DCO qu'on retrouve une légère différence d'environ 10 mg/L entre ces deux fractions. Malgré cela on retiendra que la pollution carbonée reste en très majeure partie sous forme dissoute et facilement biodégradable dans la liqueur mixte au cours du cycle de traitement dans le RBS.

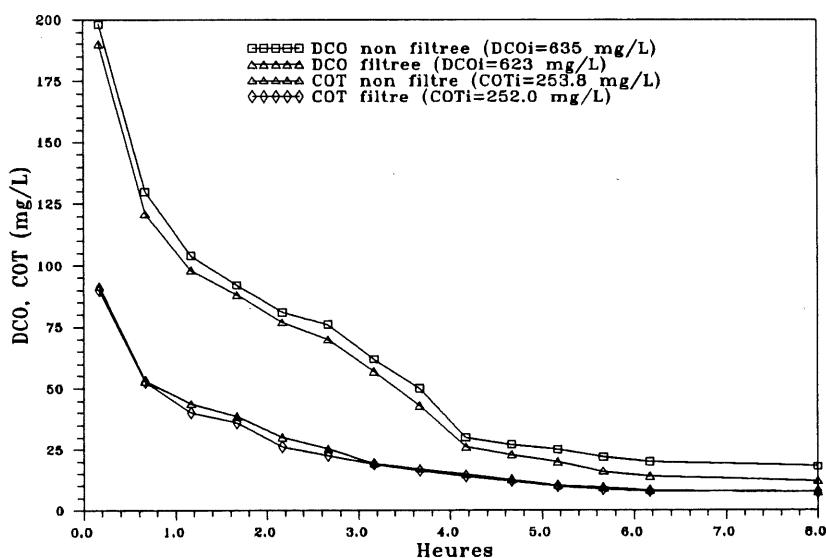


Figure 5.16. Comportement dynamique typique du carbone dans le réacteur au cours d'un cycle de traitement (jour 250).

Le comportement dynamique de TKN, ammoniac, et nitrates est présenté sur la figure 5.17. Ici on retiendra les mêmes conclusions quant à la dominance des fractions dissoutes de ces paramètres. Ces conclusions sont aussi valables pour le phosphore total et les orthophosphates (figure 5.18).

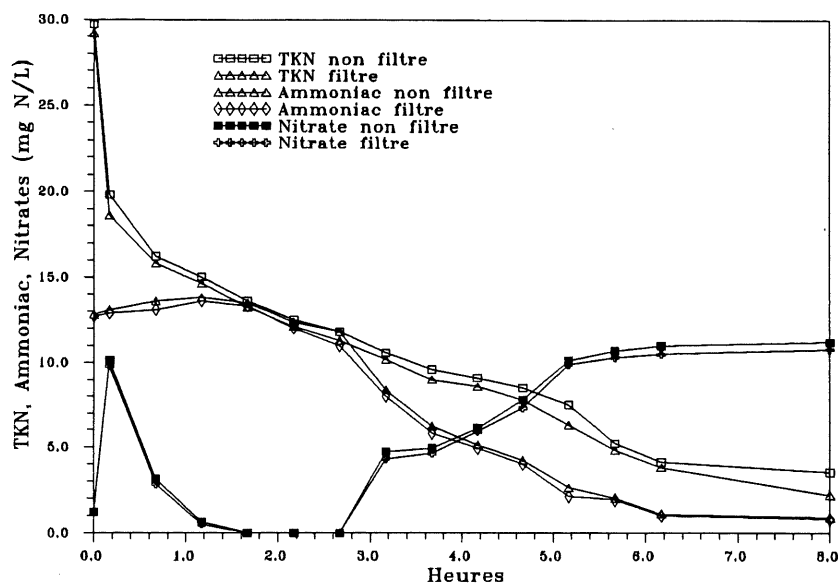


Figure 5.17. Comportement dynamique typique de l'azote dans le réacteur au cours d'un cycle de traitement (jour 250).

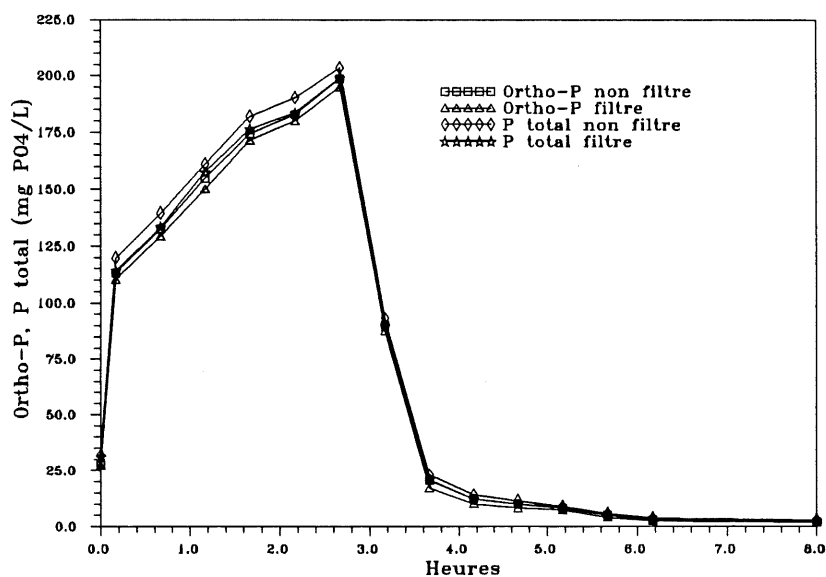


Figure 5.18. Comportement dynamique typique du phosphore dans le réacteur au cours d'un cycle de traitement (jour 250).



La figure 5.19 représente l'évolution dynamique du pH, de la température, de l'oxygène dissous, et du potentiel de l'oxydoréduction dans la liqueur mixte du réacteur au cours d'un cycle de traitement.

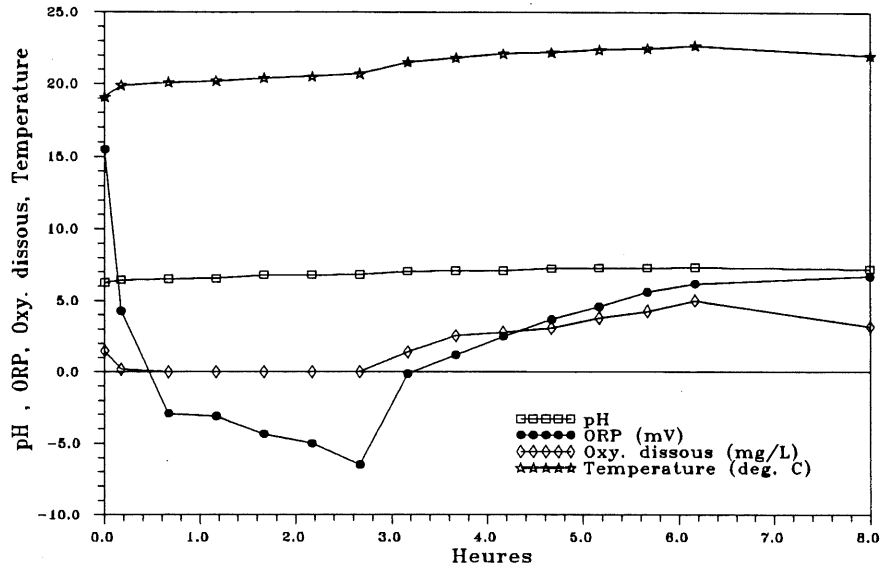


Figure 5.19. Comportement dynamique typique du pH, ORP, O<sub>2</sub> dissous et la température dans le réacteur au cours d'un cycle de traitement (jour 250).

La température augmente très légèrement depuis le remplissage de l'affluent jusqu'à la fin de la période de réaction. Cette augmentation de 3,6 °C en moyenne est impliquée par le mélange mécanique et la diffusion de l'air insufflé. Les conditions d'anaérobie sont atteintes juste à la fin de la période du remplissage du RBS et généralement au cours de la période d'aération on pouvait avoir jusqu'à 5 mg/L de concentration pour l'oxygène dissous dans la liqueur mixte.

L'ORP diminue depuis la fin de la période de remplissage du réacteur pour atteindre des valeurs négatives autour de -3,0 mV au bout de 40 minutes d'anaérobie, et reste relativement constant autour de cette valeur de -3,0 mV pendant une heure pour chuter après et atteindre une valeur autour de -6,5 mV à la fin de période d'anaérobie. Si on compare le comportement des nitrates (fig. 5.17) et celui de l'ORP (fig. 5.19), on peut remarquer que pendant la réaction de dénitrification dans le réacteur, l'ORP reste pratiquement constant et ce n'est que lorsque la concentration en nitrates tend vers une valeur nulle dans le réacteur que l'ORP chute très

rapidement. À cet instant on atteint le "break point" des nitrates dans la liqueur mixte. Ce qui nous permettra de conclure que dans notre cycle de traitement, le temps de réaction dans le RBS est composé de trois périodes: une période anoxie d'une durée de 1 heure, suivie d'une période anaérobie stricte d'une durée de 1.5 heure, suivie finalement d'une période aérobie qui dure 3.5 heures.

Le contenu spécifique en phosphore analysé dans les boues bio-P à la fin de la période aérobie du cycle est de 4.17% P (0.0417 mg P/mg MVS) avec une concentration en MVS de 3896 mg/L. On pourra remarquer qu'à cette date, où le suivi de cycle a été fait, on avait déjà atteint un plateau quant au contenu en polyphosphates de la biomasse bio-P développée dans le RBS.

### **5.3. Optimisation du temps nécessaire au développement de l'EBP dans le RBS**

L'utilisation des boues d'une station d'épuration conventionnelle pour ensemercer le réacteur RBS a nécessité une longue période d'adaptation et d'acclimatation des micro-organismes pour développer un bon rendement d'EBP. Ainsi, nous avons cherché ici à réduire ces périodes d'adaptation en utilisant des inoculums de boues bio-P combinées aux boues activées fraîchement recueillies de la station d'épuration de Magog. Ces expériences ont été effectuées dans un deuxième réacteur RBS monté en parallèle avec le premier et suivant la méthodologie décrite dans la section 4.4.3.

La figure 5.20 montre l'évolution de l'efficacité d'enlèvement du phosphore total par le deuxième système en utilisant les trois inoculums suivants: 2% (50 ml de boues bio-P provenant du premier RBS + 2550 ml de boues activées conventionnelles de Magog), 6% (150 ml de boues bio-P + 2450 ml de boues activées conventionnelles), et 12% (300 ml de boues bio-P + 2300 ml de boues de Magog). On pourra constater qu'en général les périodes nécessaires, depuis le démarrage du système, pour atteindre une stabilité de l'efficacité de l'EBP ont été considérablement réduites par rapport à la période nécessaire quand l'ensemencement avait été fait uniquement par les boues activées conventionnelles de Magog (figure 5.7.b). Ainsi suivant

les inoculums de 2%, 6%, et 12%, les périodes nécessaires pour atteindre le régime permanent quant à l'EBP sont respectivement en moyenne de 1.5 mois, 1 mois et 12 jours.

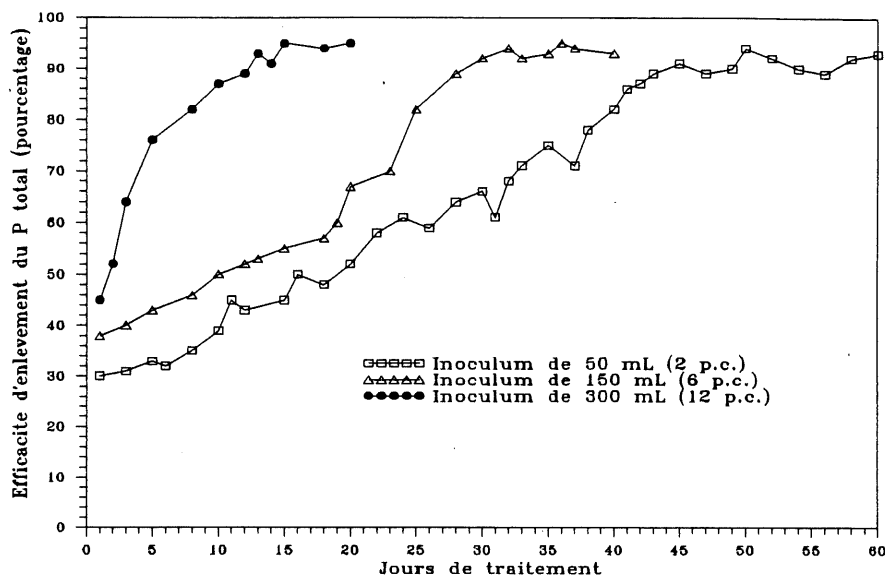


Figure 5.20. Efficacité d'EBP dans le deuxième système pour les inoculums de 2%, 6% et 12%.

Le contenu spécifique en phosphore des boues activées acclimatées dans le deuxième système et qu'on avait suivi au cours de chaque période d'adaptation est présenté par la figure 5.21.

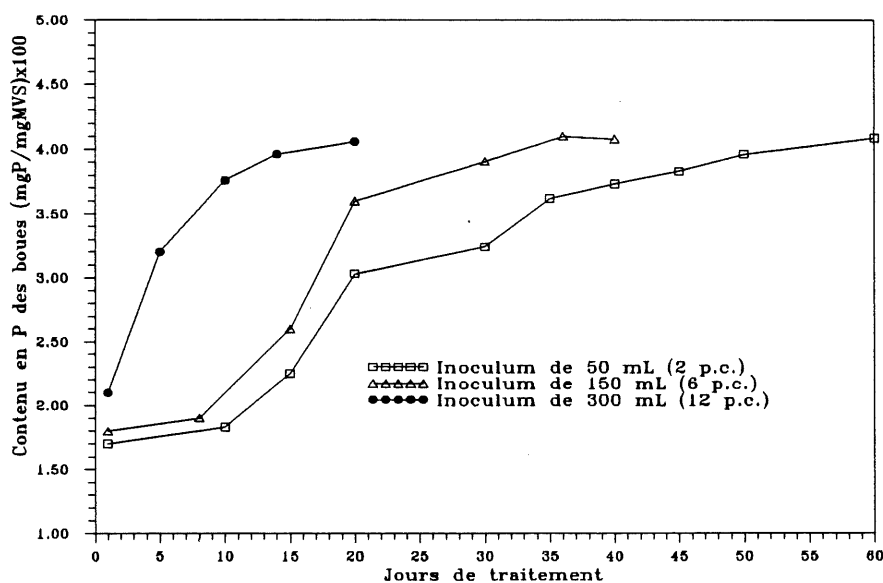


Figure 5.21. Contenu spécifique en phosphore des boues dans le deuxième système pour les inoculums de 2%, 6%, et 12%.

On retient aussi à ce niveau que le contenu spécifique en phosphore dans les boues atteint des valeurs maximales autour de 4 %P (0.040 mg P/ mg MVS). Ces valeurs sont voisines de celles déjà retrouvées dans le premier système quand il a atteint son régime stable de l'EBP. Ainsi, cela confirme que la population bactérienne bio-P dominant le deuxième système RBS se retrouve majoritaire au bout de chaque période de stabilité du système et pour chaque inoculum considéré.

L'enlèvement du carbone et de l'azote a été aussi satisfaisant quand le système a atteint sa stabilité. Le tableau 5.4 présente les efficacités moyennes obtenues pour chaque inoculum pendant la période de stabilité du système.

Tableau 5.4. Efficacité d'enlèvement du carbone et de l'azote pour chaque inoculum de boues bio-P.

Paramètre	Efficacité d'enlèvement obtenue (%)		
	Inoculum 2%	Inoculum 6%	Inoculum 12%
DCO	94.2 ± 4.4	92.8 ± 5.1	93.0 ± 3.6
COT	90.3 ± 4.1	93.0 ± 3.8	91.6 ± 5.4
TKN	89.6 ± 3.6	92.6 ± 4.1	90.0 ± 5.0
NH <sub>4</sub>	87.9 ± 5.1	90.1 ± 5.0	89.1 ± 3.8

L'évolution dynamique des orthophosphates pendant trois cycles choisis au cours du développement de l'EBP pour chaque inoculum de micro-organismes bio-P utilisé est présenté dans les figures 5.22, 5.23, et 5.24 respectivement pour les inoculums 2%, 6% et 12%. Dans le cas où l'inoculum est de 2%, le développement des bactéries bio-P se fait avec une cadence très faible depuis le démarrage de la période de l'ensemencement. Cependant pour un inoculum intermédiaire de 6% après une période d'une dizaine de jours depuis le démarrage du système, le relargage et l'utilisation du phosphore deviennent plus importants par rapport au relargage et à l'utilisation du phosphore pour l'inoculum de 2% avec des facteurs de 3.6 fois plus de relargage en phase anaérobie et de 2.4 fois plus d'utilisation du phosphore en phase aérobie. Après la

même période de démarrage du système, avec un inoculum de 12% on atteignait pratiquement la stabilité du système quant au relargage et à l'utilisation du phosphore.

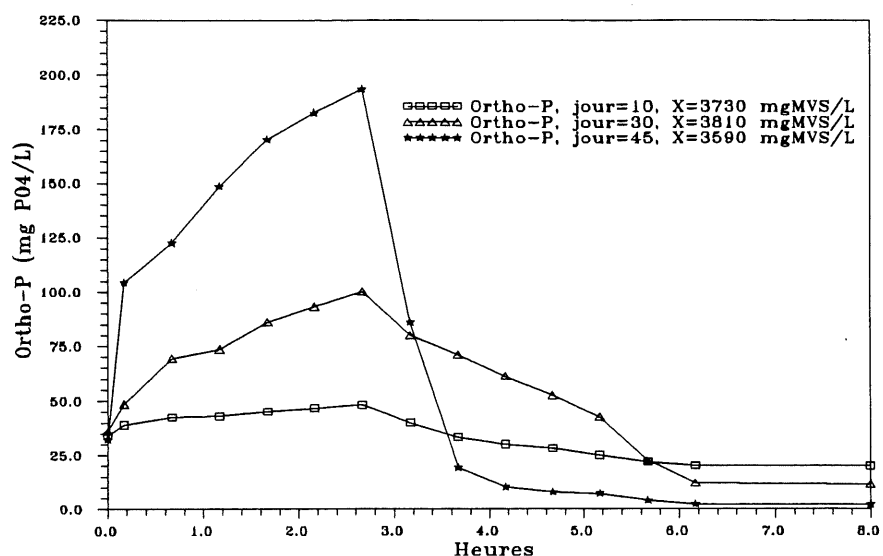


Figure 5.22. Comportement dynamique des orthophosphates durant des cycles de traitement avec un inoculum de 2% (50 mL de boues bio-P).

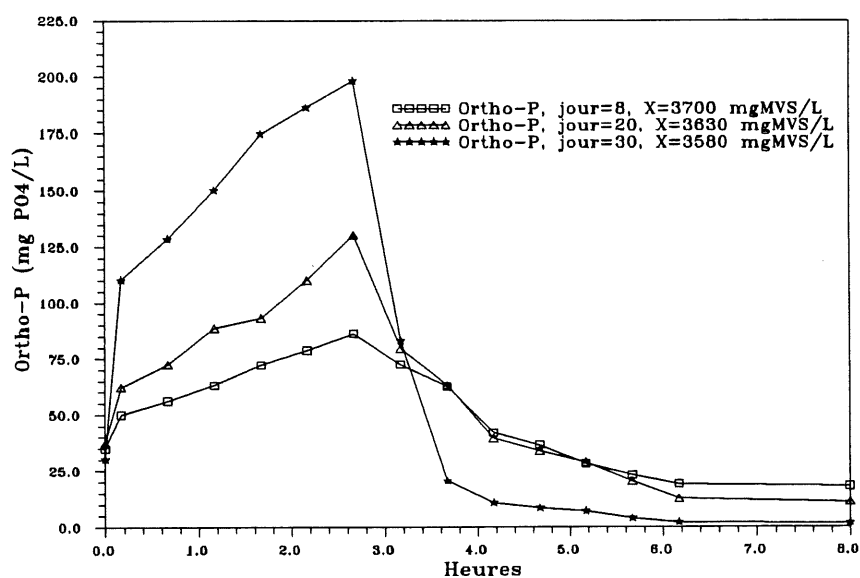


Figure 5.23. Comportement dynamique des orthophosphates durant des cycles de traitement avec un inoculum de 6% (150 mL de boues bio-P).

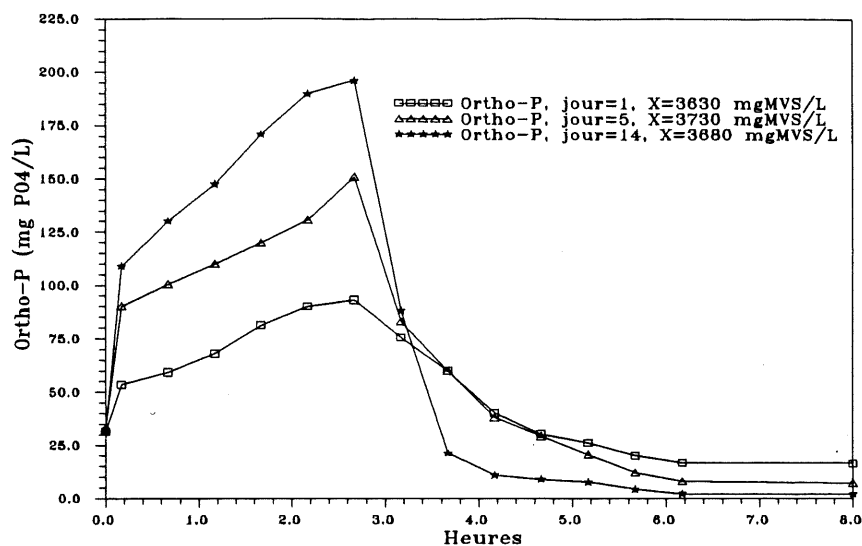


Figure 5.24. Comportement dynamique des orthophosphates durant des cycles de traitement avec un inoculum de 12% (300 mL de boues bio-P).

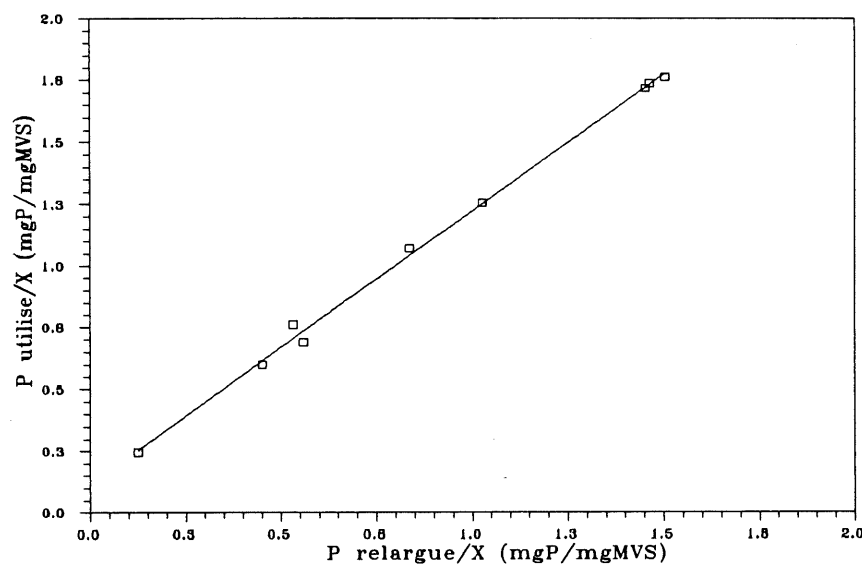


Figure 5.25. Corrélation entre le phosphore spécifique relargué et le phosphore spécifique utilisé dans le deuxième système d'EBP.

Le relargage spécifique du phosphore obtenu est aussi corrélé, selon une régression linéaire, avec l'utilisation spécifique du phosphore, pour les trois inoculums de boues activées bio-P dans le deuxième système d'EBP (figure 5.25). La corrélation obtenue est similaire à celle déterminée précédemment pour le premier système qui avait nécessité une longue période pour le

développement de l'EBP quand uniquement les boues activées conventionnelles ont été utilisées pour l'ensemencement du réacteur. Cette corrélation est linéaire avec les coefficients de régression suivants:  $a = 1.104$ ,  $b = 0.117$ , et  $R^2 = 0.98$ .

#### 5.4. Cinétiques biologiques de relargage du phosphore par les bactéries bio-P sous des conditions anaérobies

À travers les résultats des expériences de la section précédente traitant du développement de l'enlèvement biologique du phosphore dans un réacteur biologique séquentiel, nous avons remarqué qu'en régime stable d'EBP, sous des conditions d'aérobie, les bactéries bio-P développées accumulaient les polyphosphates jusqu'à atteindre un maximum pour le contenu spécifique en polyphosphates. L'accumulation des polyphosphates est liée à la quantité relarguée de phosphore par les bactéries bio-P lors de la phase anaérobie. Suite aux essais que nous avons conduit pour étudier le relargage du phosphore sous des conditions d'anaérobie, en stimulant les bactéries bio-P par différentes concentrations en acides gras volatils, nous développerons ici un modèle mathématique représentant la cinétique du comportement dynamique des bactéries bio-P vis à vis des polyphosphates contenus dans les cellules bactériennes. Ce modèle se basera sur le contenu spécifique maximal en polyphosphates de la biomasse bio-P et sur la constante de dégradation des polyphosphates.

##### 5.4.1. Ordre de la réaction du relargage

Le phosphore relargué, sous des conditions d'anaérobie, par la biomasse bio-P provient des polyphosphates contenus dans la cellule bactérienne. On considère qu'au bout de chaque intervalle de temps pendant lequel la biomasse subit des conditions d'anaérobie, la quantité relarguée de polyphosphates sous forme de phosphore inorganique à l'extérieur de la cellule bactérienne est proportionnelle à la quantité restante de polyphosphates à l'intérieur de cette cellule bactérienne. Le comportement des polyphosphates pourra donc suivre une équation de la forme 5.2.

$$\frac{dP_s}{dt} = -K (P_s)^n \quad (5.2)$$



avec,

K: Constante de la réaction de dégradation des polyphosphates ( $\text{h}^{-1}$ )

$P_i$ : Concentration de polyphosphates dans la cellule bactérienne ( $\text{mg P/L}$ )

n: Constante (ordre de la réaction du relargage)

Les essais réalisés pour déterminer l'ordre de la réaction du relargage ont été conduits suivant le protocole présenté dans le tableau 4.9. La figure 5.26 montre des allures de fonctions décroissantes représentant les variations des concentrations de polyphosphates  $P_i$  au cours d'une période d'anaérobiose pour différentes concentrations en AGV. Les valeurs de  $P_i$  ont tendance à se stabiliser au cours du temps au delà de 5.5 heures d'anaérobiose stricte. Alors si on représente le logarithme des concentrations en phosphore total mesuré dans les boues (ou les polyphosphates) au cours de la durée de l'essai de relargage du phosphore sous des conditions d'anaérobiose pour différentes concentrations en AGV, on obtient des droites linéaires (figure 5.27).

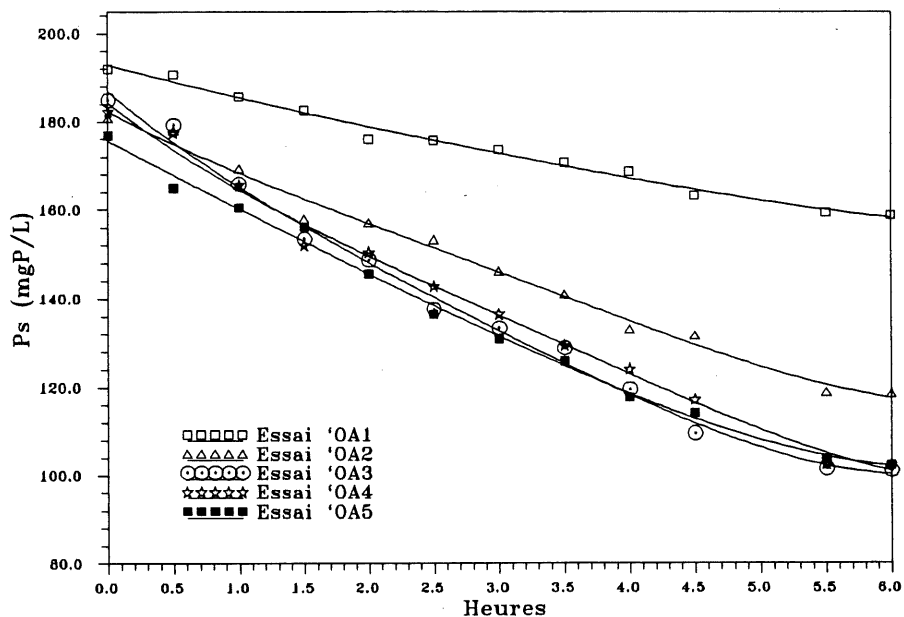


Figure 5.26. Variation des concentrations en polyphosphates dans la biomasse bio-P au cours du relargage pour différentes concentrations en AGV.

Les corrélations linéaires obtenues (figure 5.27), pour la dégradation des polyphosphates contenus dans la biomasse bio-P au cours du temps d'anaérobie, nous a permis d'affirmer que la réaction de la dégradation des polyphosphates est de premier ordre ( $n=1$ ). Ceci rejoint les conclusions de Wentzel et al. (1988) et Fukase et al. (1982), qui avaient trouvé que le relargage du phosphore par les bactéries bio-P dans la zone anaérobie de leurs systèmes d'EBP se faisait suivant une réaction du premier ordre.

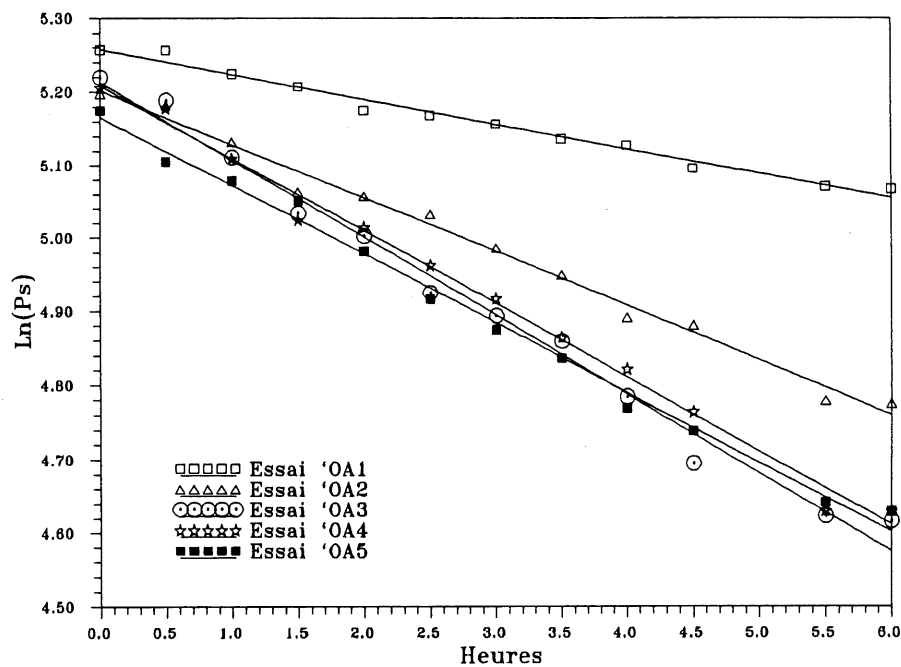


Figure 5.27.  $\text{Ln}(P_s)$  versus temps d'anaérobie pour différentes concentrations en AGV.

Les constantes de cette réaction, obtenues à partir des pentes de ces différentes droites, sont données dans le tableau 5.5.

Tableau 5.5. Constantes de réaction de dégradation de polyphosphates pour différentes concentrations en AGV considérées.

Identification de l'essai	Concentration en AGV au début de l'essai (mg DCO/L)	Biomasse X (mg MVS/L)	K (h <sup>-1</sup> )	(P <sub>s</sub> ) <sub>i</sub> / X (mg P/ mg MVS)
OA1	8.5	4720	0.034	0.0407
OB1	9.1	4695	0.035	0.0411
OA2	66.5	4464	0.073	0.0405
OB2	67.2	4686	0.072	0.0402
OA3	164.5	4610	0.106	0.0401
OB3	166.5	4825	0.104	0.0385
OA4	202.5	4613	0.099	0.0395
OB4	200.9	4640	0.100	0.0400
OA5	252.5	4346	0.096	0.0407
OB5	255.2	4171	0.094	0.0416

(P<sub>s</sub>)<sub>i</sub> : Concentration en polyphosphates mesurée dans les boues initialement tout au début de l'essai de relargage en batch.

#### 5.4.2. Développement du modèle de relargage du phosphore

La réaction de dégradation des polyphosphates est d'ordre un, donc l'équation 5.2 peut s'écrire sous la forme 5.3.

$$\frac{d(\frac{P_s}{X})}{dt} = -K(\frac{P_s}{X}) \quad (5.3)$$

Et si on considère,

P<sub>d</sub>: la concentration en phosphore total dans le surnageant de l'échantillon prélevé tout au début de l'essai de relargage en batch.

P<sub>0</sub>: la concentration en phosphore total mesuré dans le surnageant de l'échantillon prélevé au bout de la première heure d'anaérobie (après avoir complété la dénitrification).

- P:** la concentration en phosphore total mesuré dans le surnageant de l'échantillon prélevé au bout de chaque intervalle de temps.
- $P_{\text{max}}/X$ :** le contenu spécifique maximal en polyphosphates de la biomasse prélevée du réacteur RBS après la phase aérobie.
- $L_m$ :** le contenu spécifique maximal en polyphosphates de la biomasse après la dénitrification. ( $L_m = P_{\text{max}}/X - (P_0 - P_d)/X$ ).
- $L_t$ :** la concentration spécifique en polyphosphates de la biomasse bio-P à l'instant  $t$  depuis le début de la phase anaérobie stricte (après la période de dénitrification) avec  $L_t = P_s/X - P_0/X$ .
- $Y_t$ :** la concentration spécifique en phosphore relargué à l'instant  $t$  depuis le début de la phase anaérobie stricte (après la période de dénitrification) avec  $Y_t = P/X - P_0/X$ .

Puisque le phosphore relargué provient des polyphosphates contenus dans les bactéries bio-P, on peut alors écrire la relation 5.4.

$$L_t = L_m - Y_t \quad (5.4)$$

La figure 5.28 illustre le comportement des polyphosphates dans la bactérie bio-P et celui du phosphore relargué au cours d'un essai de relargage après la période de dénitrification.

L'équation 5.3 peut être écrite sous la forme 5.5.

$$\frac{d\left(\frac{P_s}{X} - \frac{P_0}{X}\right)}{dt} = -K\left(\frac{P_s}{X} - \frac{P_0}{X}\right) \quad (5.5)$$

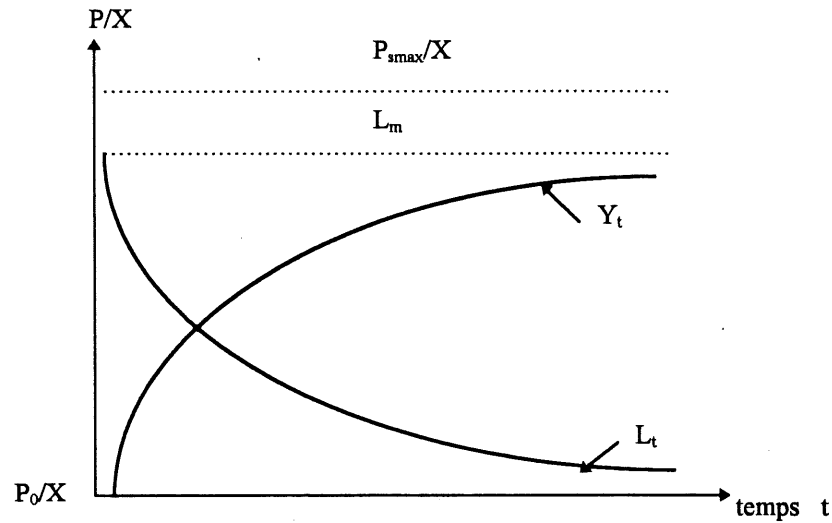


Figure 5.28. Allures du comportement des polyphosphates dans la biomasse et du comportement du phosphore relargué sous des conditions d'anaérobie.

En considérant l'expression de  $L_t$  et l'équation 5.5, on obtient la relation 5.6.

$$\frac{dL_t}{dt} = -K L_t \quad (5.6)$$

La résolution de l'équation 5.6 nous donne la solution 5.7.

$$L_t = L_m e^{-Kt} \quad (5.7)$$

Alors si on combine les équations 5.7 et 5.4, on obtient 5.8.

$$Y_t = L_m (1 - e^{-Kt}) \quad (5.8)$$

Ou encore on peut écrire cette solution sous la forme 5.9 avec ( $k = 2.303 K$ ) pour pouvoir estimer les paramètres de l'équation 5.8 ( $L_m$  et  $K$ ) par la linéarisation de Thomas (1950) appliquée à l'estimation des paramètres de la DBO.

$$Y_t = L_m (1 - 10^{-k t}) \quad (5.9)$$

L'équation 5.9 représente donc un modèle de relargage de phosphore pour une biomasse bio-P sous des conditions d'anaérobie. Ce modèle se base sur la détermination de la constante de réaction de relargage ( $K$ ) qui représente aussi la constante de dégradation des polyphosphates et de la capacité spécifique maximale de stockage de polyphosphates ( $P_{\text{max}}/X$ ).

L'estimation de  $L_m$  et de  $k$  peut être faite en utilisant la linéarisation de Thomas (1950) présentée par l'équation 5.10 qui est de la forme  $y = A t + B$ .

$$\left(\frac{t}{Y_t}\right)^{1/3} = \frac{1}{(2.303 k L_m)^{1/3}} + \frac{(2.303 k)^{2/3}}{6 L_m^{1/3}} t \quad (5.10)$$

On pourra alors calculer les paramètres  $k$  et  $L_m$  à partir de  $A$  et  $B$ , selon les relations 5.11 et 5.12.

$$k = \frac{2.606 B}{A} \quad (5.11)$$

$$L_m = \frac{1}{2.303 k A^3} \quad (5.12)$$

#### 5.4.3. Dénitrification

L'exposition d'une quantité de biomasse bio-P à des conditions d'absence totale d'oxygène pendant une période d'une heure, en présence du substrat sous forme d'eau usée synthétique selon la procédure décrite à la section 4.4.5, nous a permis de réaliser une dénitrification presque complète pour chaque essai en batch de relargage du phosphore. Le tableau 5.6 présente les efficacités de dénitrification obtenues pour ces essais.

À travers ce tableau, nous remarquons que le fait de soumettre la biomasse bio-P à des conditions d'absence totale d'oxygène, avec des concentrations initiales en nitrates variant de 5.9

à 7.7 mg N/L, pendant une heure, a permis d'avoir une dénitrification presque complète dans le réacteur, et on atteignait des efficacités de dénitrification variant de 95.1 à 98.8%. Ainsi le suivi du comportement du relargage du phosphore lors des essais était donc réalisé dans des conditions strictement anaérobie (absence de l'oxygène et de nitrates).

Tableau 5.6. L'état de la dénitrification lors des essais de relargage du phosphore

Identification de l'essai	Nitrate mesuré au début de d'essai (mg N/L)	Nitrate mesuré après une heure d'anaérobie (mg N/L)	% de transformation des nitrates (dénitrification) (%)
RA1	6.9	0.1	98.6
RB1	7.2	0.3	95.8
RA2	5.9	0.2	96.6
RB2	6.1	0.1	98.4
RA3	6.3	0.2	98.8
RB3	6.5	0.2	96.9
RA4	6.1	0.3	95.1
RB4	7.1	0.1	98.6
RA5	7.7	0.2	97.4
RB5	7.3	0.3	95.9
RA6	7.4	0.1	98.9
RB6	6.2	0.2	96.8

#### 5.4.4. Estimation du contenu spécifique maximal en polyphosphates et de la constante de réaction de relargage en utilisant le modèle développé

Après la période de dénitrification, la variation du taux spécifique du relargage du phosphore ( $P_r/X$ ) au cours de la durée de l'essai en batch est présenté par la figure 5.29, pour différentes concentrations en AGV utilisées pour stimuler les bactéries bio-P.

On remarque que généralement après une période de 4 heures de conditions d'anaérobie stricte, le relargage du phosphore par le biomasse bio-P continue quand même à avoir lieu mais à des quantités très faibles. Ceci est valable pour les différentes concentrations en AGV considérées pour ces essais.

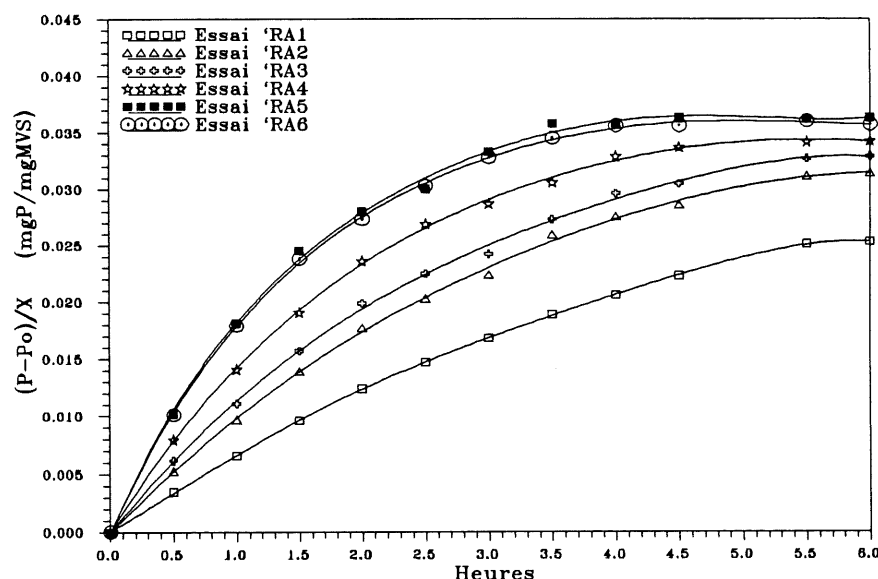


Figure 5.29. Phosphore spécifique relargué depuis le début des conditions d'anaérobie stricte versus le temps, pour différentes concentrations en AGV.

L'application de la linéarisation de Thomas (1950) à la série de données utilisée pour la représentation de la figure 5.29, nous a permis d'estimer les paramètres de relargage  $P_{smax}/X$  et  $K$  de l'équation 5.9. Ces linéarisations sont présentées dans la figure 5.30. Les paramètres de relargage obtenus à partir de la figure 5.30 et ceux relatifs aux autres essais de relargage réalisés sont donnés dans le tableau 5.7.



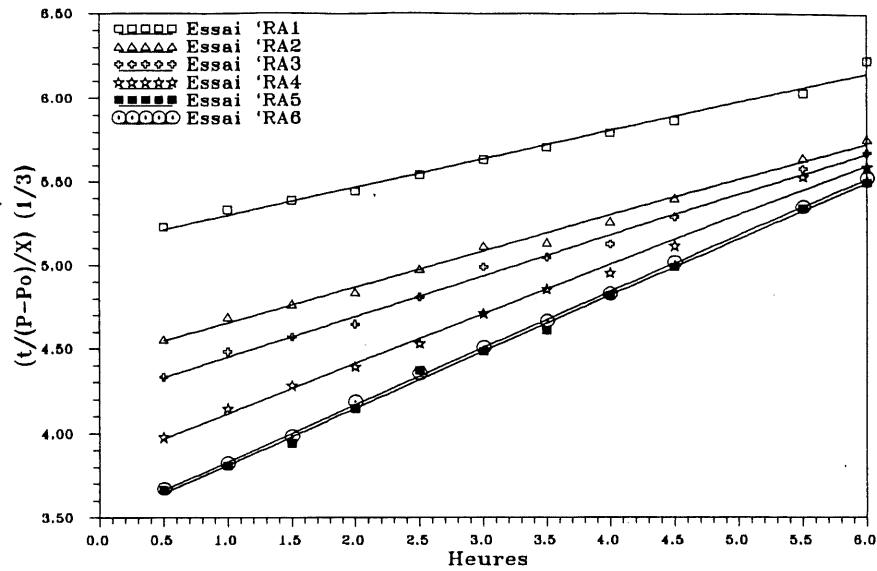


Figure 5.30. Linéarisations des données de relargage en utilisant la méthode de Thomas.

Au delà d'une période de 4 heures, sous des conditions d'anaérobie stricte, le phosphore spécifique relargué pour différentes concentrations en AGV (figure 5.29) reste pratiquement constant et ne dépasse pas une valeur maximale plateau ( $P_{tot}/X$ ). Le tableau 5.8 présente une comparaison entre les paramètres suivants :

- le contenu spécifique maximal en polyphosphates de la biomasse bio-P ( $P_{smax}/X$ ), calculé à l'aide du modèle de relargage proposé.
- le contenu spécifique en polyphosphates initialement mesuré dans la biomasse bio-P, au début de l'essai de relargage ( $(P_s)_i/X$ ). Ce paramètre est par définition identique à  $P_{smax}/X$ .
- le phosphore maximal spécifique relargué ( $P_{tot}/X$ ).

Tableau 5.7. Les paramètres de relargage obtenus pour différentes concentrations en AGV.

Identification de l'essai	Concentration en AGV au début de l'essai (mg DCO/L)	Biomasse X (mg MVS/L)	K (h <sup>-1</sup> )	P <sub>max</sub> /X (mg P/ mg MVS)
RA1	10.8	4476	0.037	0.0378
RB1	12.1	4612	0.038	0.0369
RA2	23.8	4861	0.055	0.0407
RB2	26.2	4483	0.054	0.0405
RA3	55.2	4454	0.065	0.0397
RB3	52.9	4528	0.067	0.0402
RA4	103.1	5125	0.088	0.0399
RB4	105.6	4910	0.086	0.0406
RA5	165.2	4476	0.110	0.0434
RB5	164.8	4892	0.109	0.0435
RA6	202.6	5028	0.109	0.0431
RB6	205.3	4995	0.108	0.0430

Le contenu spécifique en polyphosphates dans la biomasse bio-P ( $(P_s)_i/X$ ) représente la valeur de la concentration en phosphore total extraite par une digestion forte de boues (chapitre 4). Les valeurs de  $(P_s)_i/X$  sont comparables à celles de  $P_{max}/X$ . La figure 5.31 montre qu'en général la biomasse bio-P présente un contenu spécifique maximal en phosphore dont les bactéries ne relarguent pas la totalité absolue malgré qu'elles étaient soumises à des conditions d'anaérobiose stricte en présence de concentrations suffisantes en AGV. Ceci est justifié par le fait que le phosphore spécifique maximal que les bactéries ont pu relarguer ( $P_{tot}/X$ ) restait toujours très inférieur à  $(P_s)_i/X$ .

Tableau 5.8. Comparaison de  $P_{smax}/X$ ,  $(P_s)_i/X$  et  $P_{tot}/X$ .

Identification de l'essai	Concentration en AGV au début de l'essai (mg DCO/L)	Biomasse X (mg MVS/L)	$P_{smax}/X$ (mg P/ mg MVS)	$(P_s)_i/X$ (mg P/mg MVS)	$P_{tot}/X$ (mg P/mg MVS)
RA1	10.8	4476	0.0378	0.0402	0.0289
RB1	12.1	4612	0.0369	0.0412	0.0281
RA2	23.8	4861	0.0407	0.0406	0.0327
RB2	26.2	4483	0.0405	0.0410	0.0329
RA3	55.2	4454	0.0397	0.0396	0.0346
RB3	52.9	4528	0.0402	0.0406	0.0347
RA4	103.1	5125	0.0399	0.0411	0.0357
RB4	105.6	4910	0.0406	0.0400	0.0358
RA5	165.2	4476	0.0434	0.0398	0.0386
RB5	164.8	4892	0.0435	0.0416	0.0386
RA6	202.6	5028	0.0431	0.0413	0.0383
RB6	205.3	4995	0.0430	0.0402	0.0382

Puisque les différences relatives entre  $P_{smax}/X$  et  $(P_s)_i/X$  varient de -9.0% à +10.4%, on peut retenir que le modèle proposé pour décrire le relargage du phosphore par une biomasse bio-P stimulée par des concentrations en AGV donne une bonne estimation du contenu spécifique maximal en polyphosphates de la biomasse.

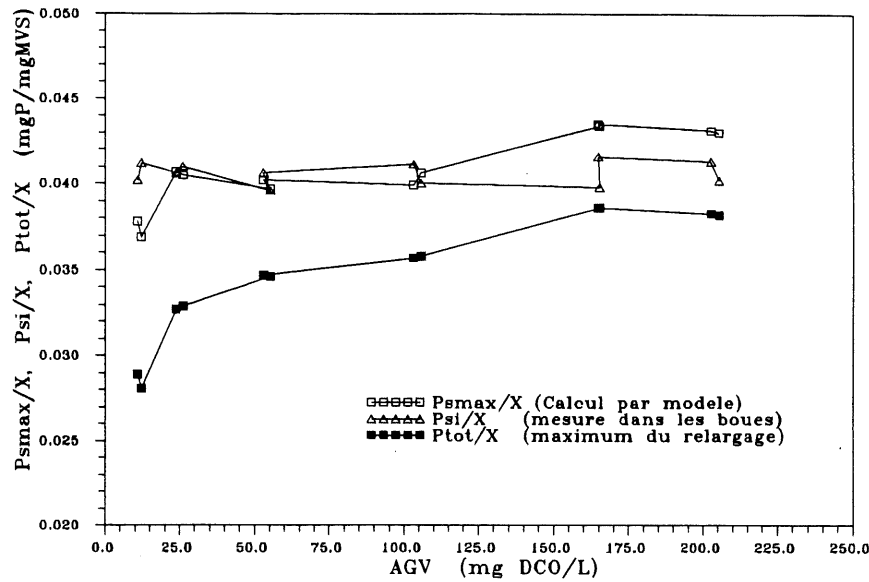


Figure 5.31. Variation du  $P_{smax}/X$ , du  $(P_s)_i/X$ , et du  $P_{tot}/X$  suivant les concentrations initiales en AGV utilisées pour la stimulation de la biomasse bio-P.

Les essais de relargage ont été réalisés pour des concentrations en AGV variant de 10.8 à 205.3 mg DCO/L. La constante de réaction de relargage  $K$ , définie aussi comme étant la constante de dégradation des polyphosphates, croît avec la quantité d'AGV stimulant les bactéries bio-P. La figure 5.32 présente cette variation qui est une corrélation linéaire ( $R^2 = 0.99$ ) pour des concentrations en AGV entre 23.8 et 166.5 mg DCO/L. Au delà de la gamme de concentrations optimales en AGV qui sont autour d'une valeur moyenne de 165 mg DCO/L, la constante  $K$  commence à décroître légèrement à cause de l'inhibition de la cinétique de relargage par des concentrations en AGV supérieures à 165 mg DCO/L. Ainsi la constante de cinétique de relargage du phosphore  $K$  varie en fonction de la concentration en AGV initialement utilisée pour la stimulation des bactéries bio-P suivant l'équation 5.13 pour des concentrations en AGV variant de 23.8 et 166.5 mg DCO/L.

$$K = 371.53 \cdot 10^{-6}(AGV) + 464.56 \cdot 10^{-4} \quad (5.13)$$

K étant la constante de la réaction du relargage exprimée en  $\text{h}^{-1}$  et AGV c'est la concentration d'AGV utilisée pour la stimulation du relargage du phosphore et qui est exprimée en  $\text{mg DCO/L}$ .

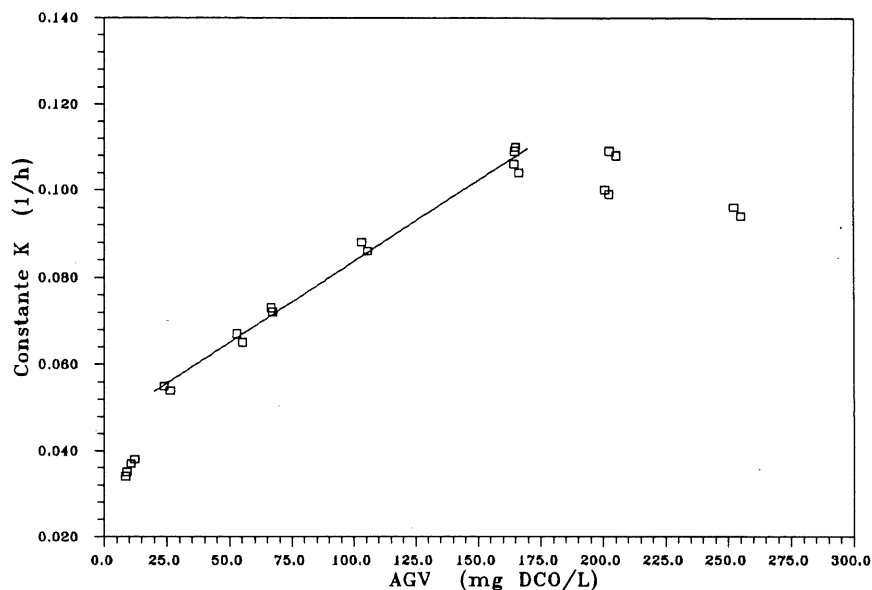


Figure 5.32. Variation de la constante de relargage K en fonction des concentrations en AGV.

#### 5.4.5. Cinétiques de relargage du phosphore suivant la variation de la température

Les essais de relargage réalisés avec la gamme de température de  $5^{\circ}\text{C}$  à  $25^{\circ}\text{C}$  pour les gammes de concentrations moyennes optimales d'AGV autour de  $165 \text{ mg DCO/L}$ , montrent que la température a une influence importante sur la réaction du relargage du phosphore. La figure 5.33 donne la variation typique du phosphore spécifique relargué pendant la période d'anaérobiose stricte et suivant la gamme de température considérée. On remarque que le taux du phosphore spécifique relargué est maximal durant la première demi-heure de l'essai de relargage sous les conditions d'anaérobiose stricte. Le relargage de phosphore obtenu à  $20^{\circ}\text{C}$  est sensiblement identique à celui obtenu à  $25^{\circ}\text{C}$  surtout vers la fin de la période d'anaérobiose stricte à laquelle la biomasse est soumise.

L'application de la linéarisation de Thomas (1950) aux données expérimentales, nous a permis d'estimer les paramètres de relargage  $K$  et  $P_{\text{max}}/X$  pour ces essais. La figure 5.34 donne les linéarisations typiques obtenues pour la gamme de température étudiée.

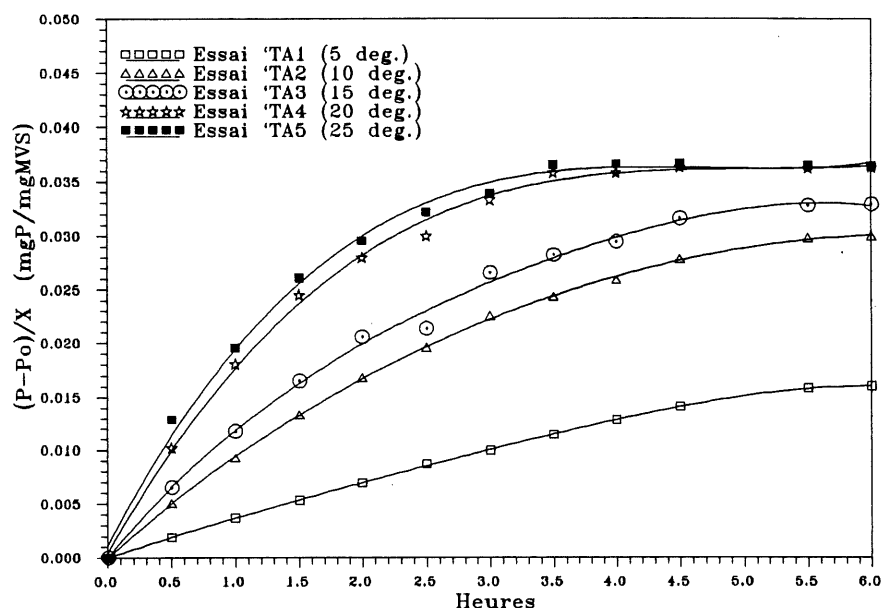


Figure 5.33. Variation typique du phosphore spécifique relargué pour la gamme de température de 5 °C à 25 °C.

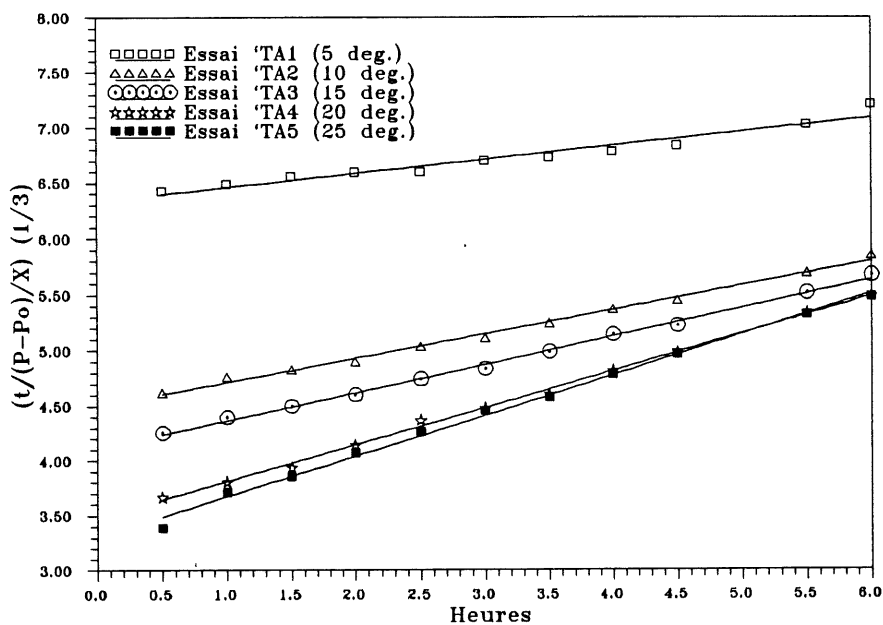


Figure 5.34. Linéarisations typiques des données de relargage du phosphore à différentes températures.

Les paramètres  $K$  et  $P_{\text{max}}/X$  obtenus à partir de ces linéarisations sont donnés dans le tableau 5.9.

Tableau 5.9. Les paramètres de relargage obtenus pour différentes températures avec des concentrations optimales en AGV.

Identification de l'essai	Concentration en AGV au début de l'essai (mg DCO/L)	Biomasse $X$ (mg MVS/L)	$K$ ( $\text{h}^{-1}$ )	$P_{\text{max}}/X$ (mg P/ mg MVS)	$(P_s)_i/X$ mg P / mg MVS)
TA1	165.1	5043	0.127	0.0458	0.0432
TB1	168.2	4892	0.125	0.0446	0.0412
TA2 $\equiv$ RA5	165.2	4476	0.110	0.0434	0.0398
TB2 $\equiv$ RB5	164.8	4892	0.109	0.0435	0.0416
TA3	167.0	4985	0.070	0.0388	0.0418
TB3	166.5	4702	0.068	0.0398	0.0406
TA4	166.8	4770	0.054	0.0391	0.0400
TB4	163.9	4298	0.055	0.0402	0.0421
TA5	164.0	4495	0.023	0.0339	0.0399
TB5	167.8	4925	0.020	0.0359	0.0406

Nous retenons ici aussi que le modèle de relargage proposé donne une estimation assez convenable du contenu maximal spécifique en polyphosphates puisque les valeurs de  $P_{\text{max}}/X$  estimées par le modèle de relargage sont très comparables à celles de  $(P_s)_i/X$  mesurées dans les boues bio-P au début de chaque essai.

Apparemment, pour la gamme de concentrations optimales en AGV, la constante de relargage  $K$  augmente avec la température pour les différents essais de relargage réalisés. Cette variation qui est représentée par la figure 5.35 suit une corrélation linéaire donnée par la relation 5.14 avec un coefficient de détermination  $R^2 = 0.98$ .

$$K(T) = 10^{-5} [528.6 T - 317.0] \quad (5.14)$$

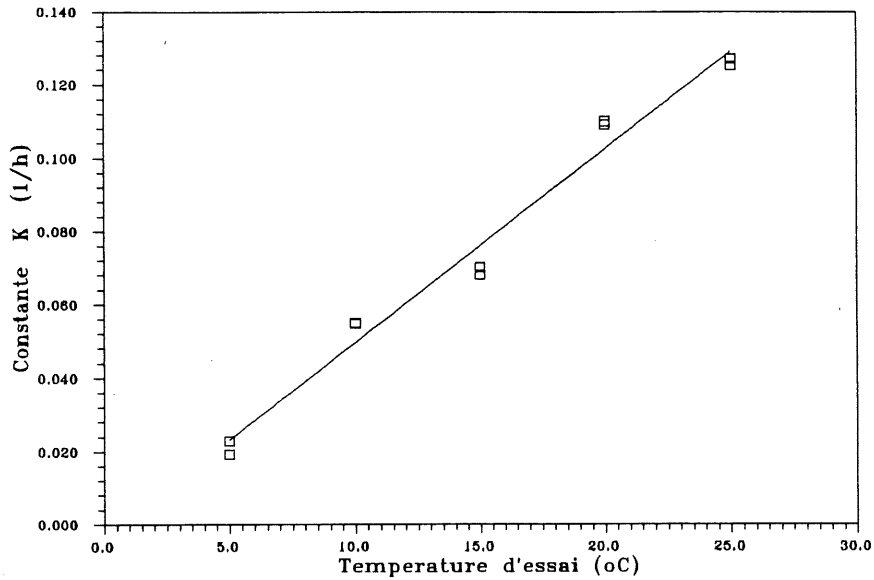


Figure 5.35. Constante de relargage K versus la température de l'essai de relargage, pour la gamme de concentrations optimales en AGV.

À l'intérieur de la gamme des températures étudiées, le taux maximum de relargage du phosphore spécifique (noté TRP) apparaît croître avec la température, et nous avons trouvé que ce taux suit une équation de type Arrhénius (équation 5.15) pour les températures entre 10 °C et 25 °C. La représentation des données expérimentales relatifs aux essais réalisés suivant la forme linéarisée de cette équation est donnée par le figure 5.36.

$$TRP = A \exp\left(\frac{-E_a}{R T}\right) \quad (5.15)$$

- Où,
- TRP : Taux maximum de relargage du phosphore spécifique (mg P/ g MVS . h)
  - A : Coefficient de Van't Hoff - Arrhénius (mg P/ g MVS . h)
  - E<sub>a</sub> : Énergie d'activation de la biomasse bio-P (J/mole)



R : Constante des gaz parfaits ( 8.3144 J/ mole/ °K)

T : Température de relargage (°K)

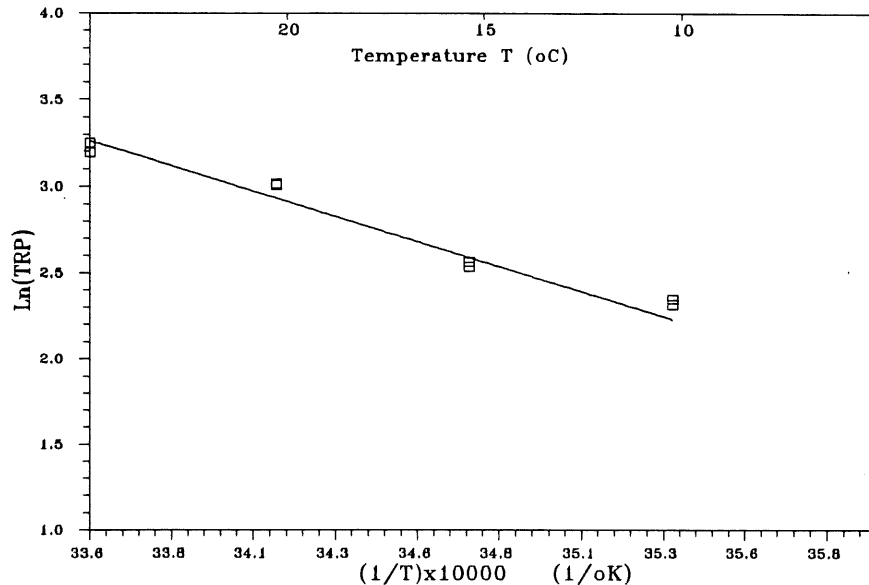


Figure 5.36. Relation linéarisée d'Arrhenius pour les taux maximums de relargage du phosphore spécifique obtenus pour différentes températures.

La figure 5.36 nous montre que pour des températures entre 10 °C et 25 °C, la forme linéarisée de l'équation 5.15 est une droite linéaire qui a pour équation la forme 5.16 avec un coefficient de détermination  $R^2 = 0.96$ .

$$\ln(TRP) = -5802.8 \frac{1}{T} + 22.74 \quad (5.16)$$

À partir de cette équation on calcule une énergie d'activation, du relargage du phosphore par la biomasse bio-P,  $E_a$  égale à 48.2 kJ / mole. La valeur de  $E_a$  trouvée est incluse dans l'intervalle des énergies d'activation pour des réactions biologiques dans le domaine du traitement des eaux usées qui varient de 8.4 à 83.8 kJ / mole selon Benefield et al. (1980) et Metcalf & Eddy (1991).

La dépendance du taux maximal de relargage du phosphore spécifique TRP en fonction de la température, sous des conditions strictement anaérobies, peut aussi être décrit par la relation

empirique 5.17 pour la gamme de température entre 10 °C et 25 °C. Cette relation provient de l'équation d'Arrhénius.

$$TRP(T) = TRP(20^{\circ}C) \theta^{T-20} \quad (5.17)$$

Avec,

T : Température en °C.

$\theta$  : Coefficient de température.

En utilisant les données expérimentales obtenues à partir des essais de relargage suivant la variation de la température, nous avons déterminé une valeur du coefficient  $\theta$  égale à 1.063 et ceci pour l'EBP dans la gamme de températures de 10 à 25 °C.

Une équation empirique pour la dépendance de la constante de relargage K en fonction de la température similaire à l'équation 5.17, en utilisant les données du tableau 5.9 relatifs à la variation de K avec la température, peut s'écrire sous la forme 5.18. Cette équation empirique est valable pour des températures entre 10 °C et 25 °C.

$$K(T^{\circ}C) = K(20^{\circ}C) [1.066]^{T-20} \quad (5.18)$$

Les valeurs des coefficients de température déterminées pour ces cinétiques de relargage du phosphore par les bactéries bio-P respectent les valeurs typiques de la majorité des applications en traitement des eaux usées par boues activées variant de 1.00 à 1.08 (Metcalf & Eddy, 1991).

En résumé, les essais en batch pour étudier l'influence de la température sur le relargage du phosphore, nous montrent qu'on peut noter une décroissance de l'activité des bactéries bio-P à relarguer le phosphore sous des conditions anaérobie quand la température décroît. Cette activité biologique décroît de 1.8 à 1.9 fois à une température de 10 °C par rapport à celle que les bactéries bio-P peuvent maintenir à 20 °C.

## 5.5. Influence des métaux lourds chrome III, chrome VI, cuivre, et plomb sur l'EBP

### 5.5.1. Caractéristiques des boues activées avant l'inhibition par les métaux lourds

Les boues activées du système d'EBP et celles provenant de la station d'épuration de Magog ont été analysées afin de connaître les quantités en métaux lourds qu'elles présentent. Cette caractérisation était nécessaire afin de déterminer la capacité d'adsorption (ou de piégeage) des boues bio-P pour chaque métal étudié. Le tableau 5.10 présente les concentrations moyennes en métaux trouvées dans les boues activées de Magog juste après leur échantillonnage et celles des boues bio-P analysées dans le système de contrôle avant de procéder à l'inhibition de l'EBP. Les caractéristiques des boues de Magog une foisensemencées avec les boues bio-P et juste avant de procéder à l'inhibition de l'EBP sont aussi présentées dans ce tableau pour chaque inhibiteur.

Tableau 5.10. Concentrations moyennes des métaux analysées dans les boues de Magog et dans les boues bio-P des réacteurs RBS. ( mg Métal / Kg boues sèches).

	Boues activées de Magog	Boues bio-P du système "contrôle"	Boues bio-P avant inhibition au Chrome III	Boues bio-P avant inhibition au Chrome VI	Boues bio-P avant inhibition au Cuivre	Boues bio-P avant inhibition au Plomb
Chrome	47.2	4.0	23.6	27.3	26.5	25.0
Cuivre	418.8	1623.4	768.2	805.6	814.3	798.2
Plomb	72.1	13.3	42.6	51.6	49.6	44.6

### 5.5.2. Influence de l'EUS sur la solubilité des cations métalliques étudiés

La composition de l'EUS qui servait à alimenter le réacteur peut a priori induire des complexations ou des précipitations des cations métalliques étudiés. Nous avons mesuré la solubilité dans l'EUS des cations étudiés. Ainsi des essais ont été réalisés en prenant à la fois une quantité de 100 ml d'EUS dans laquelle nous ajoutons la quantité en sel métallique pour obtenir les concentrations théoriques considérées et présentées dans le tableau 4.11. Après une agitation

de 30 minutes les solutions sont filtrées et le cation métallique est dosé dans le filtrat. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau 5.11.

Tableau 5.11. Solubilités des cations métalliques étudiés, dans l'EUS. (mg métal / L)

Chrome III		Chrome VI		Cuivre		Plomb	
Conc. théorique	Conc. soluble	Conc. théorique	Conc. soluble	Conc. théorique	Conc. soluble	Conc. théorique	Conc. soluble
0.0	0.0	0.0	0.0	0.6	0.5	0.0	0.0
0.5	0.2	0.5	0.3	2.0	1.3	0.5	0.2
2.0	1.0	2.0	1.3	5.0	4.2	1.0	0.4
5.0	3.2	5.0	4.1	10.0	8.6	8.0	3.5
7.0	5.1	7.0	6.2	20.0	15.8	15.0	6.4
15.0	11.9	15.0	13.6	50.0	38.4	30.0	12.3
25.0	20.6	20.0	17.8	70.0	55.2	80.0	35.8
35.0	30.1	25.0	23.5	---	---	100.0	45.5

Il faudra noter que pour les essais relatifs à l'étude de l'influence du plomb sur l'EBP, la qualité de l'EUS a été légèrement modifiée en utilisant l'eau distillée au lieu de l'eau du robinet pour la fabrication du mélange de l'EUS. Aussi la concentration en bicarbonates que présentait l'EUS selon la composition décrite au tableau 4.2 a été réduite de moitié particulièrement pour ces essais. Ceci a été nécessaire pour atteindre les solubilités du plomb mentionnées au tableau 5.11. Nous remarquons à travers le tableau 5.11. qu'il est possible d'obtenir des concentrations notables en solution dans le réacteur pour les cations étudiés. Cependant, pour le plomb, des précipitations essentiellement avec les carbonates et les hydroxydes ont lieu et la concentration de plomb en solution se trouve être réduite à plus de moitié par rapport à la concentration théorique.

Le suivi du comportement du pH au cours de chaque cycle de traitement dans le RBS où l'inhibition a été pratiquée par une concentration d'un métal étudié, a montré qu'en général le

pH présente toujours une tendance similaire à celle observée dans le système RBS servant de contrôle. Les figures de l'annexe 4 (figures A4.1 à A2.4) montrent les valeurs de pH mesurées au cours de ces cycles d'inhibition par les métaux étudiés dans le RBS.

Les sels métalliques utilisés pour l'inhibition du système impliquent la présence d'un caractère faiblement acide dans le réacteur au début du cycle, mais cette acidité devient par la suite tamponnée par les carbonates et les hydroxydes présents dans l'eau usée. Ainsi pour les essais d'inhibition réalisés, le pH varie de 6.2 à 7.7 pour le cas du chrome III, de 6.1 à 7.8 pour le cas du chrome VI, de 6.0 à 7.9 pour le cuivre, et de 6.1 à 7.4 pour le plomb.

#### 5.5.3. Influence des métaux étudiés sur l'enlèvement du Carbone dans le RBS

Le suivi du comportement du COT et de la DCO a été réalisé pour différentes concentrations considérées pour le chrome III, le chrome VI, le cuivre et le plomb afin d'évaluer leur influence sur la capacité des bactéries bio-P à dégrader le carbone présent dans l'EUS. Les évolutions de la DCO et du COT au cours du temps pendant les cycles de traitement dans le RBS pour les concentrations métalliques utilisées pour étudier l'inhibition du procédé sont montrées par les figures A3.1 à A3.8 présentées dans l'annexe 3.

Les concentrations en métaux à partir desquelles l'inhibition de l'activité bactérienne commence à se manifester convenablement sont présentées dans le tableau 5.12 pour les deux cas où l'on considère le COT et la DCO comme paramètre de contrôle de l'inhibition du système. Les concentrations ainsi relevées correspondent à une efficacité d'enlèvement de la pollution carbonée inférieure à 90%. Nous avons noté que dans le cas de la DCO les concentrations en métaux qui induisaient l'inhibition de la capacité des bactéries à l'abattement de la DCO sont moindres. Cependant, il faut noter que lors de la détermination de la DCO, il semble que le métal soit oxydé, auquel cas les valeurs mesurées sont supérieures aux valeurs réelles. Ainsi pour définir les interférences du métal au niveau du dosage de la DCO nous avons mesuré pour le métal, la DCO d'une solution de sel métallique ayant la concentration étudiée. Ces essais nous ont permis de conclure que la présence de métal, la méthode d'analyse de la DCO et les considérations numériques induisent une augmentation de la valeur de la DCO réelle et ainsi,

nous avons retenu le COT comme seul paramètre de contrôle de l'inhibition de l'enlèvement du carbone par les bactéries bio-P dans notre système.

Tableau 5.12. Concentrations inhibitrices en métaux vis à vis de la DCO et du COT.

Métal	Concentration inhibitrice pour la DCO (mg Métal / L)	Concentration inhibitrice pour le COT (mg Métal / L)
Chrome III	1.0	5.1
Chrome VI	4.1	6.2
Cuivre	1.3	4.2
Plomb	3.5	12.3

Le ralentissement de la dégradation du substrat, matérialisé par le COT, implique nécessairement que l'inhibiteur (métal considéré) oblige les micro-organismes bio-P à travailler en phase de croissance ralentie. Les bactéries bio-P subissent une phase d'attente à la fin de chaque cycle de traitement, ce qui les soumet à une phase de séquestration "faim" (l'attente du cycle suivant, après épuisement du substrat disponible à la fin de chaque cycle oblige les bactéries à vivre dans des conditions de limitation de substrat). Ainsi les micro-organismes acquièrent un caractère de consommation rapide du substrat durant les premières minutes du début du cycle suivant. C'est alors que la vitesse de dégradation du substrat devient maximale tout au début du cycle de traitement dans le réacteur RBS.

On considère que la vitesse de dégradation du carbone organique total ( $R_C$ ) s'écrit selon la relation 5.19.

$$R_C = -\frac{d(COT)}{dt} \quad (5.19)$$

La vitesse spécifique d'enlèvement du COT est notée  $r_C$  et s'écrit selon la relation 5.20, avec  $X$  étant la concentration en biomasse bio-P mesurée dans le RBS tout au début du cycle de traitement.

$$r_c = \frac{R_c}{X} \quad (5.20)$$

L'inhibition du taux spécifique maximum de croissance de la boue activée peut être décrite par le modèle mathématique donné par l'équation 5.21 (Tyagi , 1985) :

$$\frac{\mu_m^*}{\mu_m} = 1 - \left( \frac{M}{X C} \right)^n \quad (5.21)$$

avec,

$\mu_m$  : taux spécifique maximum de croissance à une concentration zéro du métal ( $h^{-1}$ ).

$\mu_m^*$  : taux spécifique maximum de croissance à une concentration donnée en métal ( $h^{-1}$ ).

M : Concentration en métal (mg /L).

X : Concentration de la biomasse (mg MVS/L).

n : Constante d'inhibition.

C : Constante d'inhibition (L/mg MVS).

L'application de ce modèle d'inhibition à l'enlèvement du carbone organique totale pour une biomasse bio-P dans les conditions de traitement par RBS avec une alternance de périodes anaérobie et aérobie peut être écrit selon la relation 5.22, pour la vitesse spécifique d'enlèvement du COT, dans le cas des métaux étudiés.

$$\frac{r_c}{r_{c0}} = 1 - \left( \frac{M}{X_0 C_c} \right)^{n_c} \quad (5.22)$$

avec,

$r_c$  : vitesse spécifique d'enlèvement du COT en présence d'une concentration en métal  
(mg C/L . h)

$r_{c0}$  : vitesse spécifique d'enlèvement du COT en absence de toute concentration en métal.

M : concentration en métal ( mg métal /L)

$X_0$  : concentration en biomasse bio-P mesurée au début du cycle de traitement  
(mg MVS/L)

$n_c$  et  $C_c$  : constantes d'inhibition (  $C_c$  exprimée en L/mg MVS et  $n_c$  est adimensionnel)

En considérant les pentes des courbes de l'annexe 3 (figures A3.1, A3.3, A3.5, et A3.7), qui représentent les valeurs de  $R_c$  pour chaque type de métal et pour chaque concentration de métal, et les concentrations en biomasse  $X_0$ , nous avons déterminé les différentes vitesses spécifiques maximales d'enlèvement du COT  $r_c$ . Ces valeurs sont compilées dans le tableau 5.13.

La linéarisation de l'équation 5.22 donne la relation 5.23.

$$\ln\left(1 - \frac{r_c}{r_{c0}}\right) = n_c \ln\left(\frac{M}{X_0}\right) - n_c \ln(C_c) \quad (5.23)$$

Tableau 5.13. Vitesses spécifiques maximales de dégradation du COT pour les essais d'inhibition réalisés

Chrome III			Chrome VI			Cuivre			Plomb		
M	$X_0$	$r_c$	M	$X_0$	$r_c$	M	$X_0$	$r_c$	M	$X_0$	$r_c$
0.0	3810	0.328	0.0	3240	0.257	0.5	3750	0.159	0.0	3460	0.164
0.2	3850	0.147	0.3	3500	0.209	1.3	3402	0.126	0.2	3720	0.102
1.0	3710	0.116	1.3	3456	0.179	4.2	3356	0.089	0.4	3548	0.101
3.2	3860	0.103	4.1	3420	0.101	8.6	3478	0.068	3.5	3450	0.064
5.1	3740	0.096	6.2	3565	0.028	15.8	3650	0.034	6.4	3630	0.050
11.9	3698	0.040	13.6	3703	0.020	38.4	3700	0.015	12.3	3800	0.034
20.6	3700	0.022	17.8	3603	0.003	55.2	3470	0.003	35.8	3810	0.030
30.1	3820	0.010	23.5	3484	0.002	--			45.5	3690	0.012

M : exprimé en mg métal/L,  $X_0$  : exprimé en mg MVS/L,  $r_c$  : exprimé en mg C/L.h.

Le rapport  $r_c/r_{c0}$  traduit l'importance de l'inhibition de l'activité des bactéries bio-P, vis à vis de l'enlèvement du carbone, induite par une concentration spécifique en métal  $M/X_0$  (exprimée en



mg métal/g MVS). La représentation de ce rapport en fonction de  $M/X_0$  est donnée sur la figure 5.37.

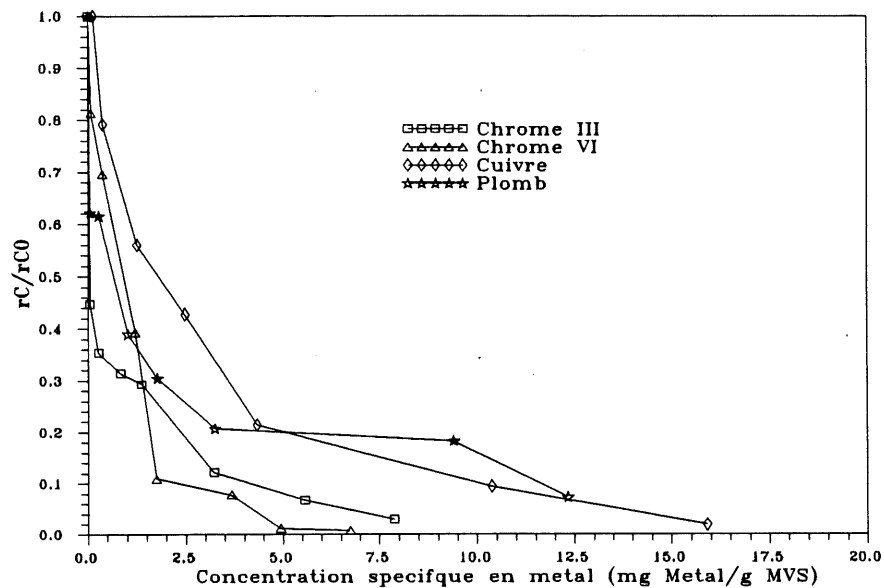


Figure 5.37.  $r_c/r_{c0}$  versus  $M/X_0$  pour les métaux étudiés.

Normalement, l'inhibition du procédé devient de plus en plus importante quand le rapport  $r_c/r_{c0}$  est faible. Ainsi à travers la figure 5.37, nous remarquons que pour des valeurs de concentrations spécifiques en métaux plus grandes, l'inhibition causée par les métaux devient plus importante. On relèvera aussi que les concentrations spécifiques en métaux induisent trois classifications de l'importance de l'inhibition de l'enlèvement du carbone observé selon les métaux inhibiteurs étudiés et en présence de bactéries bio-P dans les conditions anaérobies. On distingue alors les classifications suivantes :

chrome III > plomb > chrome VI > cuivre, pour  $0.0 < M/X_0 \leq 1.2$

chrome VI > chrome III > plomb > cuivre, pour  $1.2 < M/X_0 \leq 5.0$

chrome VI > chrome III > cuivre > plomb, pour  $5.0 < M/X_0$

L'application de la linéarisation présentée par l'équation 5.23, aux différentes valeurs de  $r_c$  pour les concentrations en métaux étudiés est représentée par la figure 5.38.

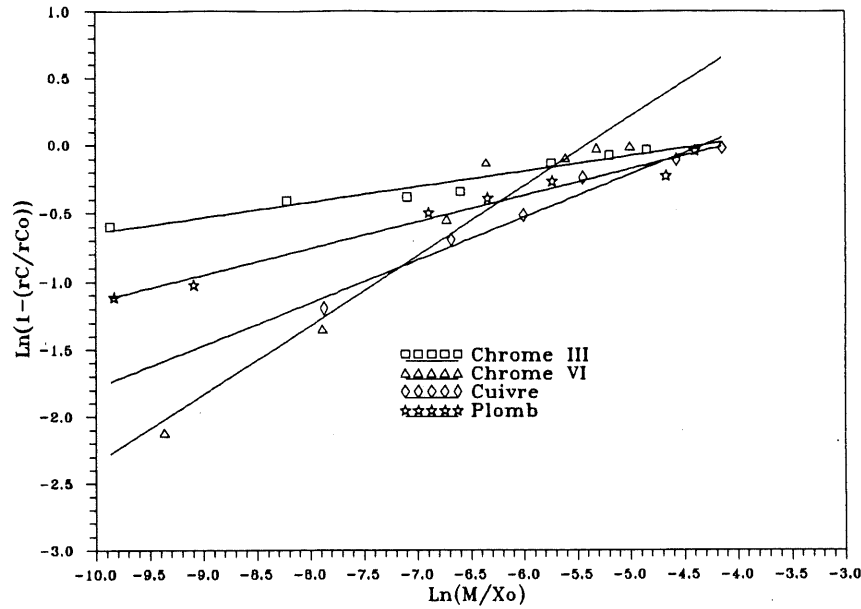


Figure 5.38.  $\text{Ln}(1-r_C/r_{C0})$  versus  $\text{Ln}(M/X_0)$  pour les métaux étudiés.

La figure 5.38 nous montre que le modèle mathématique décrit par l'équation 5.22 traduit bien l'inhibition de la vitesse spécifique maximale des bactéries bio-P en phase anaérobie vis à vis de l'enlèvement de la pollution carbonée pour les métaux étudiés. Les constantes d'inhibition du modèle  $n_C$  et  $C_C$  qui ont été obtenues sont présentées dans le tableau 5.14.

Tableau 5.14. Constantes d'inhibition  $n_C$  et  $C_C$  pour les bactéries bio-P en phase anaérobie pour les métaux étudiés.

	$n_C$	$C_C$ (L/mg MVS)	Coefficient de détermination $R^2$
Chrome III	0.1137	0.0132	0.94
Chrome VI	0.5121	0.0044	0.95
Cuivre	0.3139	0.0133	0.97
Plomb	0.1942	0.0165	0.98

On remarque aussi, sur la figure 5.38, que les droites linéaires relatives au chrome III, au cuivre, et au plomb, présentent une intersection qui a pour abscisse  $\text{Ln}(M/X_0) = -4.3$  et pour

ordonnée  $\ln(1-(r_C/r_{C0})) = -0.05$ . Cela veut dire qu'à une concentration spécifique de l'un de ces trois métaux, qu'on vient de citer, égale à 13.5 mg métal/ g MVS, on obtient pour la vitesse spécifique maximale des bactéries une inhibition de 95%. Cependant, pour le chrome VI, la droite linéaire relative à ce métal n'a pas son intersection avec les autres droites au même point, mais on pourra relever à partir de cette figure que l'inhibition de 95 % de la vitesse spécifique maximale des bactéries vis à vis de l'enlèvement de la pollution carbonée peut être atteinte pour ce métal à une concentration spécifique de 4.1 mg chrome VI/ g MVS. Ceci nous permettra de conclure qu'en général, pour l'assimilation du substrat, la sensibilité des bactéries bio-P à la toxicité du chrome VI est plus importante que celle relative aux autres métaux étudiés.

#### 5.5.4. Influence des métaux lourds sur l'enlèvement de l'azote Kjeldhal dans le RBS

Le suivi du comportement de l'azote Kjeldhal au cours des cycles de traitement par RBS, en présence des concentrations en métaux lourds, montre que les bactéries autotrophes sont plus sensibles à l'effet d'inhibition causée par les métaux et ceci rejoint les conclusions des études de Benmoussa et al. (1986).

Les figures A4.1 à A4.4 de l'annexe 5 représentent les évolutions du TKN dans le réacteur RBS en présence de différentes concentrations en métaux pendant les cycles où l'inhibition par les métaux a été étudiée. Dans ce cas, les concentrations en métaux qui commencent à influencer l'efficacité de l'abattement du TKN dans le RBS sont de : 3.2 mg/L pour le chrome III, 1.3 mg/L pour le chrome VI, 4.2 mg/L pour le cuivre, et 6.4 mg/L pour le plomb. Ainsi l'efficacité de l'abattement de TKN dans un système d'EBP par RBS est inhibée par la présence de métaux lourds selon l'ordre d'importance suivant : chrome VI > chrome III > cuivre > plomb.

On pourra aussi remarquer qu'à partir du moment où l'ajout des métaux dans le RBS a été arrêté, les bactéries autotrophes reprennent difficilement leur activité pour l'abattement du TKN (figures A4.1 à A4.4 de l'annexe 4). Ainsi pour le chrome VI, et le cuivre, même après un arrêt de l'introduction du métal dans le réacteur après 12 cycles, l'activité des bactéries pour l'enlèvement du TKN n'a pas pu reprendre. Cependant, pour le chrome III et le plomb, on

assiste à une reprise de l'activité des bactéries vis à vis de l'enlèvement du TKN après l'arrêt de l'inhibition du procédé.

La sensibilité des bactéries autotrophes à l'inhibition par les métaux est donc beaucoup plus importante que celle des bactéries hétérotrophes. Cette affirmation pourra aussi être justifiée à partir des résultats présentés par les figures A3.1, A.3.3, A.3.5, et A3.7 de l'annexe 3, où l'on pourra relever que l'activité des bactéries vis à vis de l'enlèvement de la pollution carbonée devient importante même après avoir arrêté l'introduction de métaux dans le réacteur.

#### 5.5.5. Influence des métaux lourds sur l'enlèvement du phosphore dans le RBS

L'annexe 5 regroupe les courbes décrivant le comportement des orthophosphates mesurées au cours de chaque cycle de traitement dans le RBS et pour différentes concentrations en métaux lourds utilisées (figures A5.1 à A5.4). En général ces figures montrent que l'accroissement des concentrations inhibitrices en métaux influence la cinétique de relargage du phosphore en phase anaérobie. Cette cinétique de relargage peut être traduite par le taux spécifique maximum de relargage de phosphore (noté ici TRP). Il représente la vitesse à laquelle le phosphore est relargué par une concentration de biomasse bio-P donnée, durant le début de la phase anaérobie du système RBS.

En considérant que  $X_0$  est la biomasse bio-P mesurée au début du cycle de traitement, on définira alors TRP selon la relation 5.24.

$$TRP = \frac{1}{X_0} \frac{dP_{rel}}{dt} \quad (5.24)$$

avec  $P_{rel}$  : quantité de phosphore relarguée pendant la période anaérobie  $dt$ .

Si on considère que l'inhibition de la cinétique du relargage du phosphore peut suivre un modèle mathématique similaire à celui de l'équation 5.21, On peut alors décrire cette inhibition par la relation 5.25 suivante :

$$\frac{TRP}{TRP_0} = 1 - \left( \frac{M}{X_0 C_{PR}} \right)^{n_{PR}} \quad (5.25)$$

avec,

**TRP** : taux spécifique maximum de relargage du phosphore en présence d'une concentration en métal ( en mg P/ g MVS . h)

**TRP<sub>0</sub>** : taux spécifique maximum de relargage du phosphore en absence de métal. (en mg P/ g MVS . h)

**X<sub>0</sub>** : concentration en biomasse bio-P (mg MVS/L)

**M** : concentration en métal utilisée pour l'inhibition du système (mg métal / L)

**n<sub>PR</sub>** et **C<sub>PR</sub>** : constantes d'inhibition du relargage ( C<sub>PR</sub> exprimée en L/mg MVS et n<sub>PR</sub> est adimensionnel)

En considérant les pentes des courbes de l'annexe5 (figures A5.1, A5.2, A5.3, et A5.3) qu'on rapporte par rapport à X<sub>0</sub>, on obtient les valeurs de TRP pour chaque type de métal et pour chaque concentration en métal étudiée. Ces valeurs sont rassemblées dans le tableau 5.15.

La représentation graphique du rapport TRP/TRP<sub>0</sub> en fonction de la concentration spécifique en métaux M/X<sub>0</sub> est montrée sur la figure 5.39.

Tableau 5.15. Taux spécifiques maximums de relargage du phosphore sous des conditions anaérobies pour les essais d'inhibition par les métaux lourds.

Chrome III			Chrome VI			Cuivre			Plomb		
M	X <sub>0</sub>	TRP	M	X <sub>0</sub>	TRP	M	X <sub>0</sub>	TRP	M	X <sub>0</sub>	TRP
0.0	3810	24.12	0.0	3240	22.87	0.5	3750	23.12	0.0	3460	21.5
0.2	3850	19.81	0.3	3500	11.5	1.3	3402	13.49	0.2	3720	19.91
1.0	3710	15.41	1.3	3456	7.60	4.2	3356	6.67	0.4	3548	17.23
3.2	3860	13.85	4.1	3420	5.44	8.6	3478	5.92	3.5	3450	12.82
5.1	3740	9.93	6.2	3565	4.41	15.8	3650	5.09	6.4	3630	8.3
11.9	3698	8.10	13.6	3703	1.39	38.4	3700	0.42	12.3	3800	6.84
20.6	3700	7.50	17.8	3603	0.80	55.2	3470	0.38	35.8	3810	0.23
30.1	3820	0.82	23.5	3484	0.61	--			45.5	3690	0.03

M : exprimé en mg métal/L, X<sub>0</sub> : exprimé en mg MVS/L, TRP : exprimé en mg P/g MVS.h.

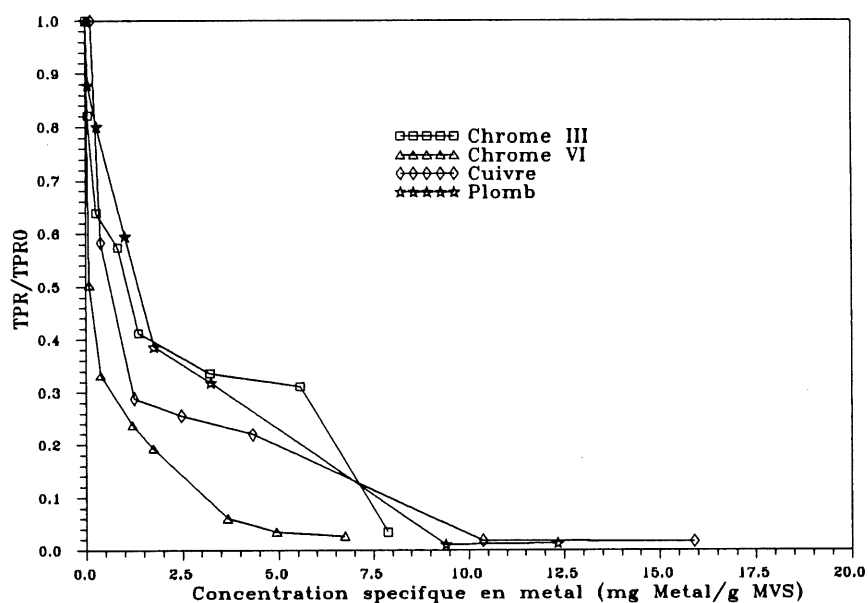


Figure 5.39. TRP/TRP<sub>0</sub> versus M/X<sub>0</sub>, pour les métaux lourds étudiés.

On pourra remarquer, à travers la figure 5.39, que l'inhibition de la cinétique de relargage du phosphore se présente selon deux classifications de l'importance de ces métaux à induire cette inhibition. L'importance de cette inhibition se présente donc suivant deux gammes de concentrations spécifiques en métaux présentes dans le système RBS, à savoir:

chrome VI > cuivre > chrome III > plomb, pour  $0.0 \leq M/X_0 \leq 2.0$

chrome VI > cuivre > plomb > chrome III, pour  $2.0 \leq M/X_0$

Pour déterminer les constantes d'inhibition des cinétiques du relargage du phosphore  $n_{PR}$  et  $C_{PR}$ , on pourra linéariser l'équation 5.25, et ainsi on obtient la relation 5.26.

$$\ln\left(1 - \frac{TRP}{TRP_0}\right) = n_{PR} \ln\left(\frac{M}{X_0}\right) - n_{PR} \ln(C_{PR}) \quad (5.26)$$

La figure 5.40 montre cette linéarisation appliquée aux données des essais d'inhibition par les métaux lourds réalisés au laboratoire.

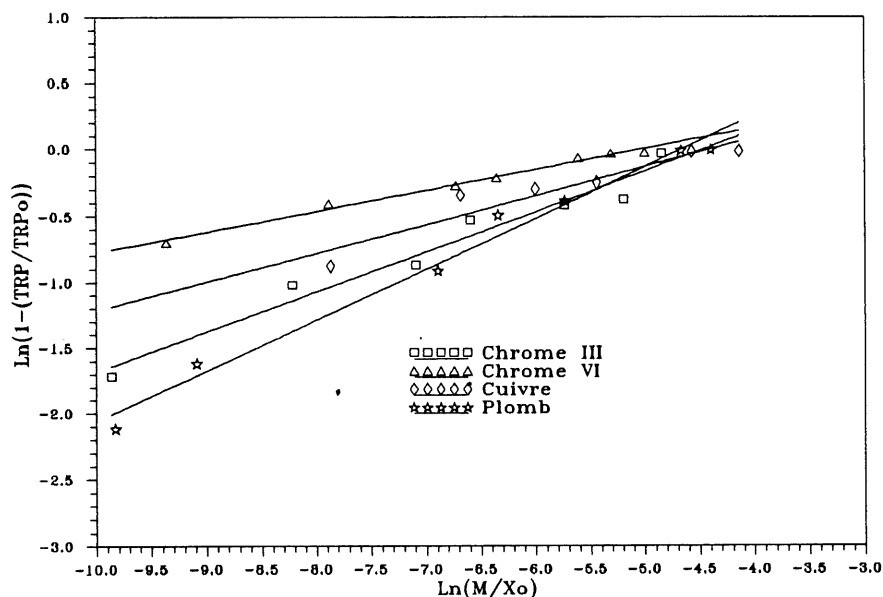


Figure 5.40.  $\ln(1-(TRP/TRPo))$  versus  $\ln(M/X_0)$ .

La figure 5.40 nous montre que le modèle décrit par la relation 5.25 décrit bien l'inhibition de la cinétique de relargage du phosphore par les bactéries bio-P sous des conditions anaérobies, et ceci pour les métaux étudiés. Les constantes d'inhibition de ce modèle  $n_{PR}$  et  $C_{PR}$  qui ont été obtenues sont compilées dans le tableau 5.16.

Tableau 5.16. Constantes d'inhibition  $n_{PR}$  et  $C_{PR}$  pour le relargage du phosphore par la biomasse bio-P en phase anaérobie et pour les métaux étudiés.

	$n_{PR}$	$C_{PR}$ (L/mg MVS)	Coefficient de détermination $R^2$
Chrome III	0.304	0.800	0.96
Chrome VI	0.156	0.820	0.99
Cuivre	0.217	0.797	0.90
Plomb	0.386	0.807	0.98

Ce tableau nous montre que la constante  $C_{PR}$  prend une valeur relativement constante pour les métaux étudiés. Ainsi on pourra conclure que la valeur de la constante d'inhibition du relargage du phosphore  $n_{PR}$  est d'autant plus grande que l'inhibition de l'activité des bactéries bio-P à relarguer le phosphore, sous des conditions d'anaérobie, devient faible. L'importance de l'inhibition causée au relargage par les métaux lourds se classera donc selon l'ordre suivant:

chrome VI > cuivre > chrome III > plomb.

En phase aérobie, l'utilisation du phosphore est aussi inhibée par la présence des métaux lourds dans le réacteur RBS. Ceci est montré par les figures A5.1 à A5.4 de l'annexe 5. Nous avons déjà montré dans la section 5.2.3 que la quantité totale du phosphore spécifique relargué par les bactéries bio-P en phase anaérobie est bien corrélée à celle utilisée en phase aérobie par ces mêmes bactéries. Cela nous permettra de définir le paramètre TSPU comme étant le taux spécifique maximal d'utilisation du phosphore qui est égale à la vitesse moyenne d'utilisation du phosphore pendant la phase aérobie. Ce paramètre peut s'écrire selon la relation 5.27.



$$TSPU = \frac{1}{X_0} \left( -\frac{\Delta P_{ut}}{\Delta t} \right) \quad (5.27)$$

avec,

$\Delta P_{ut}$  : quantité de phosphore utilisée pendant la période aérobie.

$\Delta t$  : durée de la phase aérobie.

La cinétique d'utilisation du phosphore par les bactéries bio-P pourra donc être matérialisé par le paramètre TSUP. De ce fait on considère que l'inhibition de cette cinétique va être décrite par le modèle mathématique d'inhibition de l'équation 5.28.

$$\frac{TSPU}{TSPU_0} = 1 - \left( \frac{M}{X_0 C_{PU}} \right)^{n_{PU}} \quad (5.28)$$

avec,

$TSPU$  : taux spécifique maximum d'utilisation du phosphore en présence d'une concentration en métal ( en mg P/ g MVS . h)

$TSPU_0$  : taux spécifique maximum d'utilisation du phosphore en absence de métal.  
(en mg P/ g MVS . h)

$X_0$  : concentration en biomasse bio-P (mg MVS/L)

$M$  : concentration en métal utilisée pour l'inhibition du système (mg métal / L)

$n_{PU}$  et  $C_{PU}$  : constantes d'inhibition d'utilisation du phosphore (  $C_{PU}$  exprimée en L/mg MVS et  $n_{PR}$  est adimensionnel)

On représente sur la figure 5.41. la variation du rapport  $TSPU/TSPU_0$  en fonction des concentrations spécifiques des métaux étudiés. À partir de cette figure nous remarquons que vers des concentrations spécifiques en métaux inférieures à 4.0 mg métal/mg MVS, l'inhibition de la cinétique d'utilisation du phosphore par les bactéries bio-P sous les conditions aérobies est plus importante pour le chrome VI, suivi du cuivre par ordre d'importance, puis du plomb, et finalement du chrome III. Cependant que pour créer une inhibition totale de la cinétique d'utilisation du phosphore par la biomasse bio-P, il faudra des concentrations spécifiques en métaux suivantes : 6.5 mg  $Cr^{6+}$ / mg MVS pour le chrome VI, 8.0 mg  $Cr^{3+}$ / mg MVS pour le chrome III, 13.5 mg Pb / mg MVS pour le plomb, et 17.0 mg Cu / mg MVS pour le cuivre.

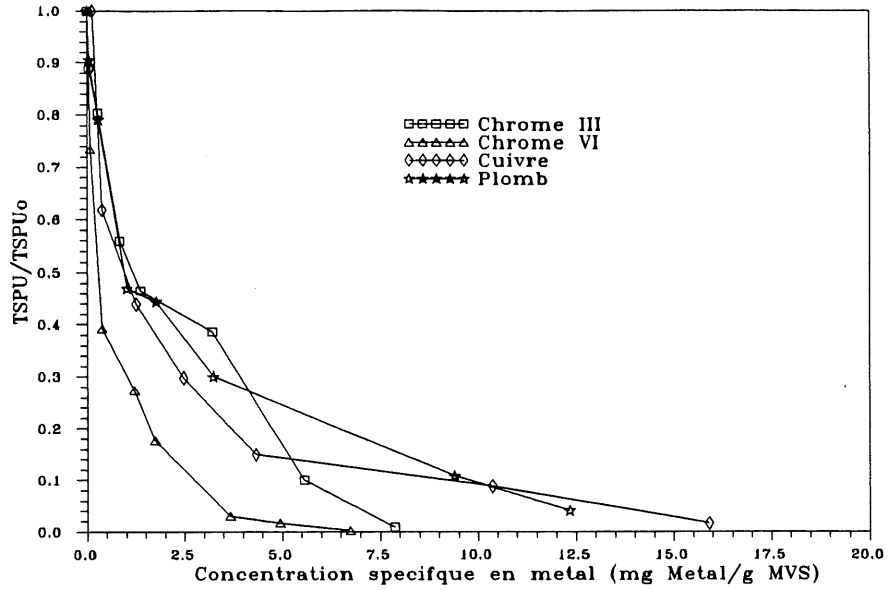


Figure 5.41. Variation de  $TSPU/TSPU_0$  en fonction de  $M/X_0$ .

La linéarisation du modèle d'inhibition de l'utilisation du phosphore par la biomasse bio-P en phase aérobie peut s'écrire sous la forme exprimée par l'équation 5.29.

$$\ln\left(1 - \frac{TSPU}{TSPU_0}\right) = n_{PU} \ln\left(\frac{M}{X_0}\right) - n_{PU} \ln(C_{PU}) \quad (5.29)$$

L'application de cette équation 5.29 aux données de l'annexe 5 quant à l'utilisation du phosphore en phase aérobie est représentée par la figure 5.42.

Cette figure montre que le modèle d'inhibition de la cinétique d'utilisation du phosphore décrit par l'équation 5.28 décrit convenablement cette cinétique en présence de métaux étudiés. Les constantes d'inhibition de ce modèle  $n_{PU}$  et  $C_{PU}$  obtenues sont données dans le tableau 5.17.

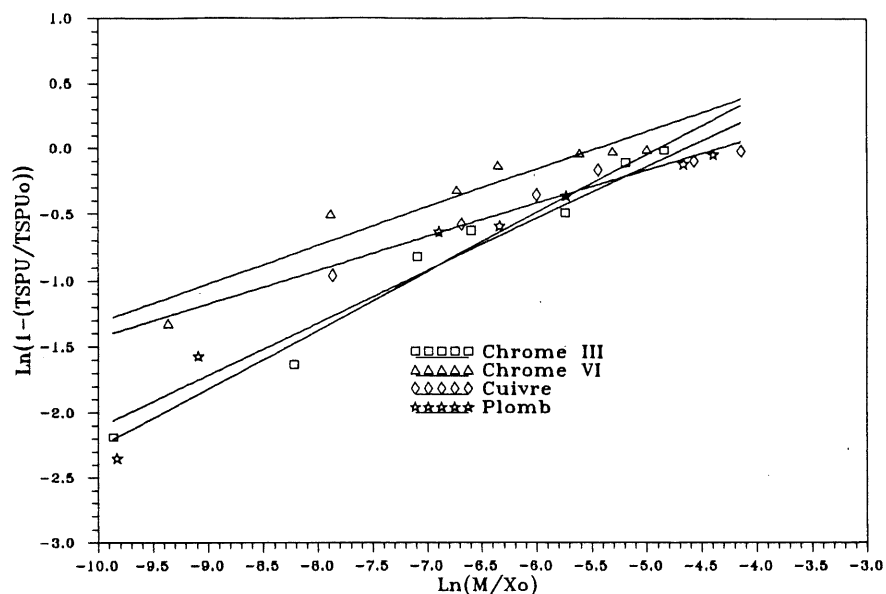


Figure 5.42.  $\text{Ln}(1-(\text{TSPU}/\text{TSPU}_o))$  versus  $\text{Ln}(M/X_o)$ .

Tableau 5.17. Constantes d'inhibition  $n_{PU}$  et  $C_{PU}$  pour l'utilisation du phosphore par la biomasse bio-P en phase aérobie et pour les métaux étudiés.

	$n_{PU}$	$C_{PU}$ (L/mg MVS)	Coefficient de détermination $R^2$
Chrome III	0.445	0.007	0.98
Chrome VI	0.290	0.004	0.91
Cuivre	0.234	0.013	0.95
Plomb	0.395	0.009	0.95

#### 5.5.6. Adsorption des métaux lourds sur les boues bio-P

Au cours de nos essais nous avons mesuré aussi la concentration en métal restante dans le surnageant au cours des cycles de traitement dans le RBS pour chaque métal étudié. Les variations des concentrations en métaux relevées au cours du temps pendant chaque cycle sont présentées dans l'annexe 6 ( figures A6.1 à A6.5 ). En général les valeurs de concentrations en

métal trouvées en solution après traitement sont inférieures aux concentrations initiales, il est donc possible de supposer qu'une adsorption des métaux sur les boues activées bio-P a lieu.

Pour le chrome III, durant la première heure de la phase anaérobie, on assiste à une accumulation accélérée du métal par la biomasse bio-P. Après une heure d'anaérobiose, l'accumulation du métal par la biomasse devient faible jusqu'à la fin de cette phase non aérée. Pendant la phase aérobie, l'accumulation du chrome III par la biomasse bio-P reprend de l'ampleur mais avec une cadence moindre que celle observée au début du cycle de traitement.

Pour le chrome VI, on observe deux comportements de la biomasse bio-P vis à vis de l'accumulation du métal. D'abord pour des concentrations d'inhibition en métal inférieures ou égales à  $4.1 \text{ mg Cr}^{6+}/\text{L}$ , on assiste à un piégeage rapide du métal par les boues activées tout au début du cycle qui continue avec une vitesse plus faible durant le restant de la phase anaérobie. Quand l'apport d'oxygène commence, cette adsorption a lieu avec une vitesse relativement moindre. Pour des concentrations en chrome VI supérieures ou égales à  $6.2 \text{ mg Cr}^{6+}/\text{L}$ , seulement l'adsorption d'une quantité importante du métal sur les boues bio-P peut être notée tout au début de la phase anaérobie. Au delà de cette période aucune adsorption notable n'est observée.

Pour le plomb, après un piégeage rapide du Plomb par la biomasse bio-P tout au début du cycle, on observe en général un relargage du métal par les boues pendant la phase anaérobie et c'est seulement lors de la phase aérobie que la biomasse bio-P va piéger des concentrations relativement importantes en plomb. Le relargage du plomb lors de la phase anaérobie peut provenir des précipités de phosphate de Plomb qui tendent à se dissoudre pour libérer le plomb dans la liqueur mixte du réacteur.

Le cuivre présente un comportement contraire à celui du plomb. Ainsi, on observe une accumulation du cuivre dans les boues pendant la phase anaérobie et un relargage en solution de ce métal lors de la phase aérobie. Ce relargage du cuivre peut résulter d'une modification de la surface des cellules bactériennes ou d'une désorption au niveau des sites actifs externes des bactéries par suite à une lyse cellulaire de la biomasse bio-P (Stanier et al., 1986).

Les concentrations spécifiques en métaux adsorbées par la biomasse bio-P ( $M_{\text{adsorbé}}$ , exprimée en mg métal/ Kg boues sèches), suivant les concentrations en métaux utilisées pour l'inhibition de l'activité biologique de cette biomasse, sont regroupées dans le tableau 5.18. Ces concentrations correspondent aux quantités de métal déterminées dans les boues après chaque essai d'inhibition pour chaque concentration de métal étudiée.

Tableau 5.18. Adsorption des métaux lourds sur les boues bio-P.

Chrome III		Chrome VI		Cuivre		Plomb	
M (mg/L)	$M_{\text{adsorbé}}$ (mg/Kg)	M (mg/L)	$M_{\text{adsorbé}}$ (mg/Kg)	M (mg/L)	$M_{\text{adsorbé}}$ (mg/Kg)	M (mg/L)	$M_{\text{adsorbé}}$ (mg/Kg)
0.0	23.6	0.0	27.3	0.5	814.3	0.0	44.6
0.2	165.3	0.3	240.6	1.3	1500.7	0.2	981.6
1.0	641.3	1.3	728.1	4.2	3432.2	0.4	1887.8
3.2	2183.9	4.1	2943.5	8.6	5237.2	3.5	5353.3
5.1	4067.7	6.2	5322.6	15.8	8017.8	6.4	7970.1
11.9	12520.6	13.6	11613.2	38.4	26514.3	12.3	9944.4
20.6	18937.1	17.8	17754.9	55.2	49129.6	35.8	13416.3
30.1	32414.9	23.5	23654.1	---	---	45.5	22084.5

Le tableau 5.18. fait apparaître une rétention des métaux lourds par les boues bio-P. Pour ce piégeage de métaux, si on admet que ce processus de rétention des métaux est assimilé à un phénomène d'adsorption obéissant à l'isotherme de Langmuir, on peut alors écrire la relation 5.30.

$$\frac{M_i - M_{eq}}{X} = \frac{C_m b M_{eq}}{1 + b M_{eq}} \quad (5.30)$$

avec,

$C_m$  : capacité maximale d'adsorption du métal sur la biomasse bio-P  
(exprimée en mg métal / mg MVS)

$M_i$  : concentration en métal initiale au début du cycle, utilisée pour l'inhibition  
(mg métal /L)

$M_{eq}$  : concentration en métal résiduel dans le surnageant à la fin du cycle ( mg métal /L)

$b$  : coefficient, qui est lié à l'énergie d'adsorption du métal ( L/ mg métal).

En linéarisant l'équation 5.30, on obtient la forme d'une droite selon la relation 5.31.

$$\frac{M_{eq}}{M_i - M_{eq}} = \frac{1}{b C_m} + \frac{1}{C_m} M_{eq} \quad (5.31)$$

L'application de cette linéarisation aux données de nos essais, est représentée par la figure 5.43.

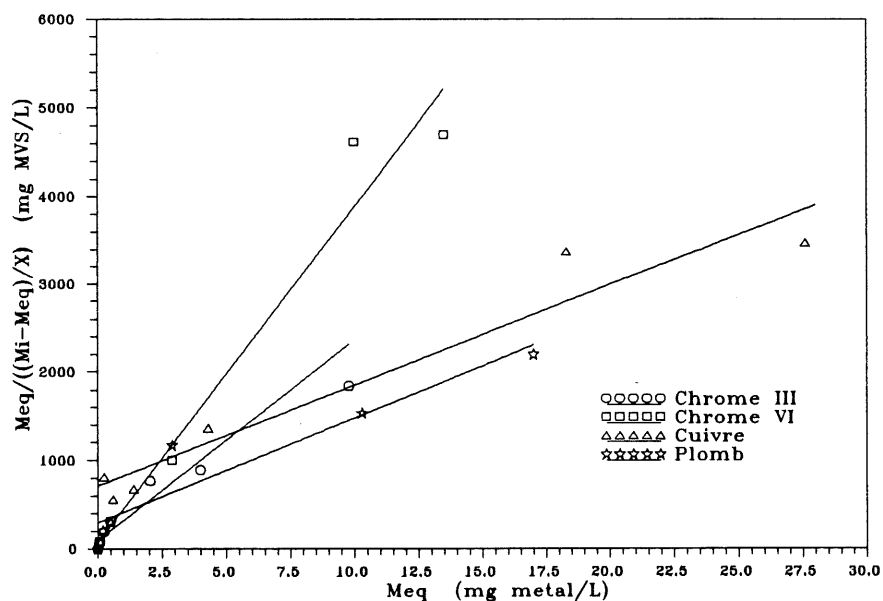


Figure 5.43. Représentation de la linéarisation de l'isotherme de Langmuir pour les données des essais réalisés.

Les paramètres de l'isotherme de Langmuir obtenus à partir de la figure 5.43, pour le chrome III, chrome VI, cuivre, et plomb, sont rassemblés dans le tableau 5.19.

Le paramètre  $C_m$  qui caractérise la capacité des boues bio-P à accumuler le métal, prend des valeurs différentes pour les métaux étudiés. Ainsi on pourra déduire du tableau 5.19 que les boues bio-P présentent une facilité d'adsorption du chrome III plus grande que celle accordée au chrome VI. Cependant le cuivre et le plomb s'adsorbent sur les boues d'une façon relativement plus importante que le chrome III et le chrome VI. Aussi, selon les résultats du tableau 5.19 on remarque que l'énergie liée à l'adsorption du métal, caractérisée par le coefficient  $b$ , est d'autant plus grande que le métal présente une faible capacité d'adsorption sur les boues.

Tableau 5.19. Les paramètres de l'isotherme de Langmuir déterminés pour l'adsorption des métaux lourds sur les boues bio-P.

	Chrome III	Chrome VI	Cuivre	Plomb
$C_m$ (mg métal/g MVS)	5.54	2.63	8.77	8.46
$b$ (L/mg métal)	1.28	5.20	0.16	0.40
Coefficient de détermination $R^2$	0.96	0.97	0.94	0.90

## 5.6. Étude du rôle du glycogène dans l'EBP

À travers les essais décrits dans la section 4.4.6, nous avons remarqué que le premier système effectue un bon enlèvement biologique du phosphore, cependant que pour le deuxième système, les boues activées n'ont pas pu garder la capacité d'accumuler les polyphosphates en quantités importantes malgré que ce dernier système était soumis à une alternance de phases anaérobie/aérobie. L'évaluation du contenu spécifique en phosphore des boues activées de ce deuxième système durant les jours de sa mise en marche sous les conditions décrites dans la section 4.4.6, est présentée dans la figure 5.44. Cette figure nous montre que tout au début de la mise en marche du deuxième système, et durant les trente premiers jours du fonctionnement du réacteur, on observe une accumulation de polyphosphates dans la biomasse ( le contenu spécifique en phosphore passe d'une valeur initiale de 1.65% P à 2.12% P). Au delà de cette période, le contenu spécifique en phosphore analysé dans les boues commence à diminuer pour atteindre, au moment de la stabilité du système, une valeur moyenne de 1.77% P. Le fait d'observer ce comportement du contenu spécifique en phosphore dans la biomasse, nous a fait pensé qu'un autre type de bactéries, autre que les bio-P, a compétitionné avec les bactéries bio-P pour dominer le deuxième système.

Nous avons donc voulu vérifier que le fait de détecter une variation du contenu en glycogène dans une biomasse soumise à une séquence anaérobie/aérobie peut ne pas être accompagné nécessairement d'une accumulation de polyphosphates.

D'autre part, afin de confirmer la différence entre la biomasse présente dans le premier système et celle du deuxième système, nous avons procédé à l'observation des boues activées au microscope optique après coloration au bleu de méthylène des échantillons de boues activées des deux systèmes et qui ont été prélevés à la fin de la phase aérobie de chaque système RBS en utilisant la méthode décrite par Jenkins et al. (1986). Nous avons alors remarqué que les cellules bactériennes sont fortement colorées bleu-violet pour les boues activées provenant du premier système. Toutefois on peut détecter dans ces boues d'autres cellules en nombre très faible, dont seule la paroi est colorée fortement. Tandis que, l'examen des boues prélevées dans le deuxième système a montré que seulement les parois des cellules bactériennes sont fortement colorées par



rapport au reste de la cellule. Ceci explique que les deux systèmes ne présentent pas le même genre de micro-organismes. On assiste donc à une biomasse bio-P dans le premier système, et un autre type de biomasse différent des bactéries bio-P dans le deuxième système.

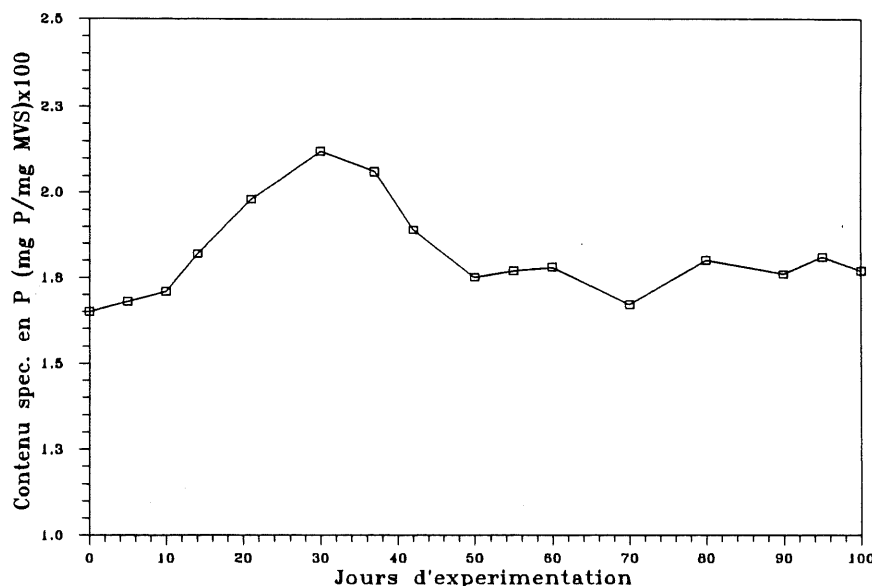


Figure 5.44. Évolution du contenu spécifique en phosphore des boues dans le deuxième système durant la période de sa mise en marche pour l'étude du comportement du glycogène.

#### 5.6.1. Essais en batch en utilisant les boues acclimatées à l'EBP

La première série d'essais en batch pour étudier le comportement du glycogène dans les systèmes d'EBP, a été conduite en utilisant des boues bio-P provenant du premier système qui effectue un enlèvement biologique du phosphore.

La figure 5.45 montre le comportement typique des paramètres analysés (COT, orthophosphates, PHB, et glycogène), quand la source de carbone utilisée lors de l'essai en batch est sous forme de succrose seul. La figure 5.46 montre le comportement typique de ces paramètres lorsque la source de carbone est seulement sous forme d'acétate de sodium. D'autre part, la figure 5.47 donne le comportement typique de ces paramètres quand la source de carbone est un mélange de succrose et d'acétate de sodium.

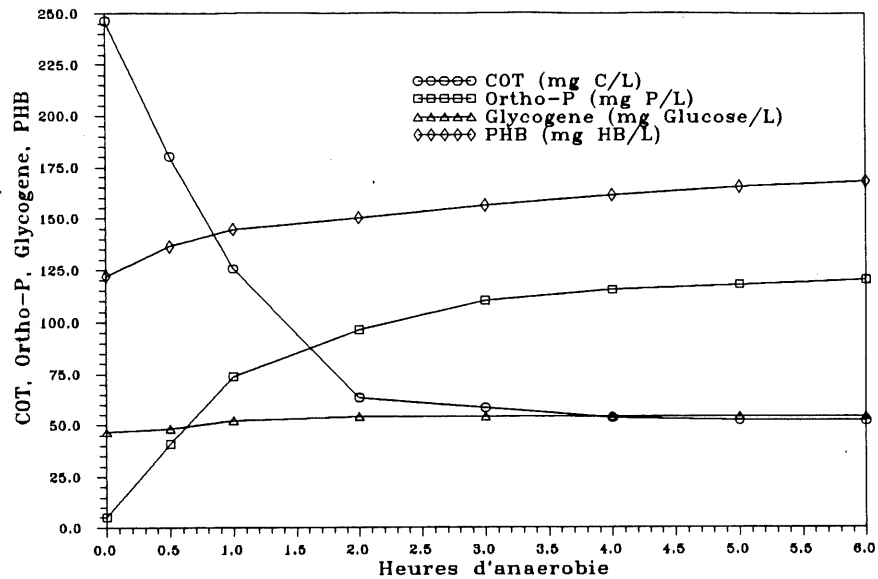


Figure 5.45. Comportement typique des paramètres analysés lors de la première série d'essais en batch, quand la source de carbone pour la biomasse est sous forme de sucrose seul.

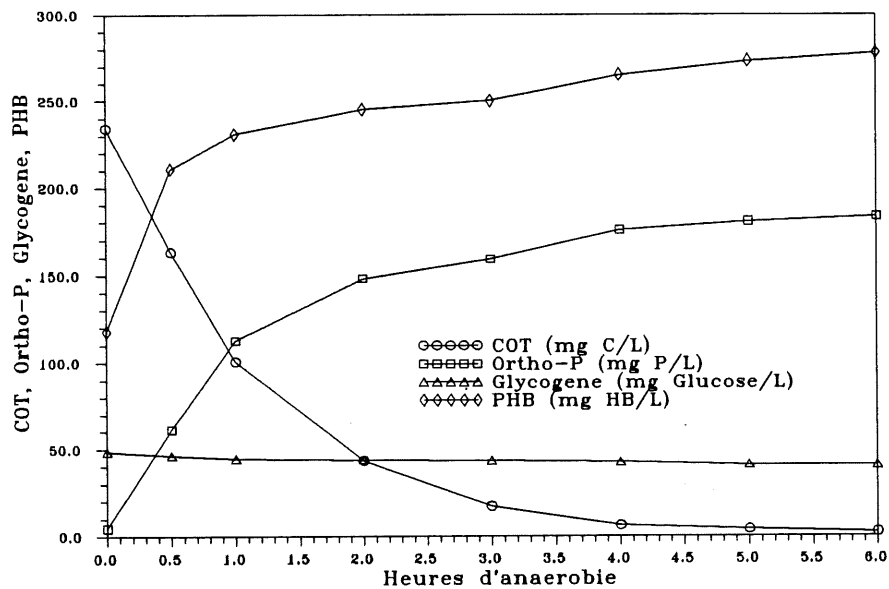


Figure 5.46. Comportement typique des paramètres analysés lors de la première série d'essais en batch, quand la source de carbone pour la biomasse est seulement sous forme d'acétate de sodium.

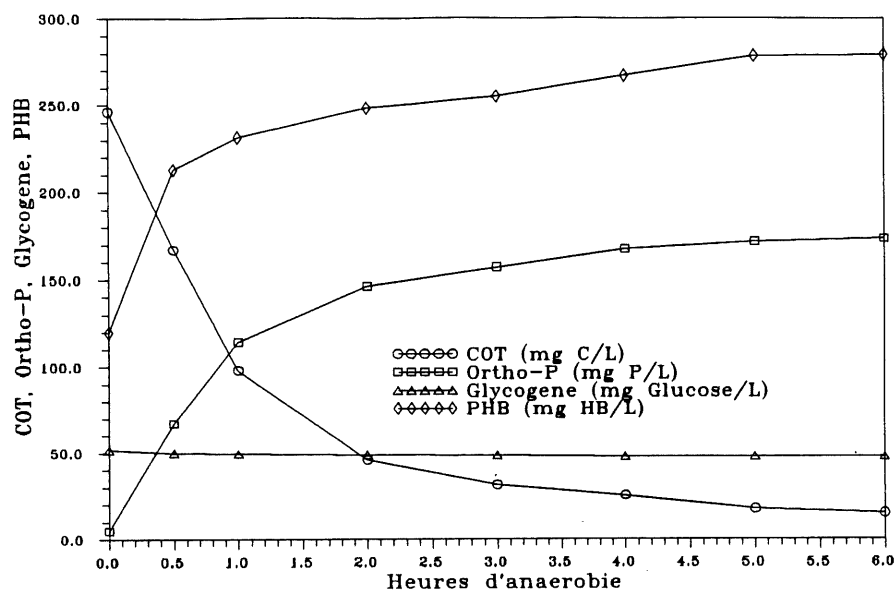


Figure 5.47. Comportement typique des paramètres analysés lors de la première série d'essais en batch, quand la source de carbone pour la biomasse est un mélange de sucrose et d'acétate de sodium.

Ainsi, les quantités de substrat utilisé, les quantités de glycogène utilisé ou produit, et les quantités de PHB stockés par la biomasse bio-P pour les différents essais en batch réalisés sous des conditions anaérobies pour cette première série d'expériences et pour les différents substrats étudiés, sont montrées dans le tableau 5.20. Les valeurs de ces paramètres représentent les différences entre les valeurs analysées initialement dans les boues et celles obtenues à la fin de chaque essai en batch, c'est à dire après 6 heures d'anaérobiose stricte et en présence du substrat considéré.

Les quantités de glycogène produites ou utilisées (valeurs du tableau 5.20) comparées à celles présentes initialement dans les boues activées (tableau 4.13. de la section 4.4.6), nous montrent que la cinétique de comportement du glycogène à l'intérieur de la cellule bactérienne, dans des conditions d'anaérobiose, dépend en premier lieu du type de substrat qui leur est disponible.

Tableau 5.20. Utilisation du substrat par la biomasse dans la première série d'essais en batch réalisés pour l'étude du comportement du glycogène.

Essai	Source de carbone	Phosphore relargué (mg P / g MVS)	Substrat : COT utilisé (mg C / g MVS)	Glycogène utilisé (mg glucose / g MVS)	Glycogène produit (mg glucose / g MVS)	PHB produit (mg HB / g MVS)
I.S1	Succrose	24.5	41.5	0	1.2	0.0098
I.S2	Succrose	19.2	37.7	0	1.0	0.0073
I.A1	Acétate	38.8	49.0	0.5	0	0.0338
I.A2	Acétate	37.2	41.0	0.4	0	0.0350
I.(S+A)1	Succ.+Ac.	36.1	48.1	0.7	0	0.0332
I.(S+A)2	Succ.+Ac.	36.6	45.2	0.6	0	0.0348

Dans ces conditions, on notera une légère production du glycogène dans les cellules bactériennes quand le substrat est sous forme de succrose seul. La production du glycogène dans ce cas varie de 10 à 12 % par rapport au contenu initialement disponible dans la biomasse tout au début des essais en batch. Cependant que lorsque le substrat fourni à la biomasse est constitué seulement de l'acétate ou d'un mélange de succrose + acétate, c'est une diminution encore légère du contenu en glycogène de la biomasse qu'on observe. Dans ce cas, cette diminution varie de 3.4 à 4.8%, quand le substrat est constitué de succrose uniquement, et elle est de 6.1 à 6.5% lorsqu'un mélange succrose + acétate est utilisé comme substrat.

Les calculs des rapports massiques du phosphore relargué, du glycogène utilisé, du glycogène produit et des PHB stockés, par rapport au substrat consommé, à partir des données du tableau 5.20 sont rassemblés dans le tableau 5.21.

Tableau 5.21. Rapports massiques par rapport au substrat utilisé dans la première série d'essais réalisés pour l'étude du comportement du glycogène.

Essai	Source de carbone	<u>P relargué</u> COT utilisé (mg P/mg C)	<u>Gly. Utilisé</u> COT utilisé (mg Gl/ mg C)	<u>Gly. Produit</u> COT utilisé (mg Gl/ mg C)	<u>PHB Produit</u> COT utilisé (mg HB/mg C)
I.S1	Succrose	0.59	0	0.03	0.24
I.S2	Succrose	0.51	0	0.02	0.19
I.A1	Acétate	0.79	0.01	0	0.69
I.A2	Acétate	0.91	0.01	0	0.85
I.(S+A)1	Succ.+Ac.	0.75	0.01	0	0.69
I.(S+A)2	Succ.+Ac.	0.81	0.01	0	0.77

Gl. : Glucose, Gly. : Glycogène.

#### 5.6.2. Essais en batch en utilisant les boues acclimatées à une séquence anaérobie/aérobie sans effectuer l'EBP

Les boues activées provenant du deuxième système où une séquence anaérobie/aérobie a été maintenue, ont été utilisées dans la deuxième série d'essais en batch. Les comportements des différents paramètres analysés ( COT, orthophosphates, glycogène, et PHB) sont montrés par les figures 5.48, 5.49, et 5.50 respectivement lorsque le substrat est constitué de succrose seul, d'acétate seul, et d'un mélange acétate + succrose.

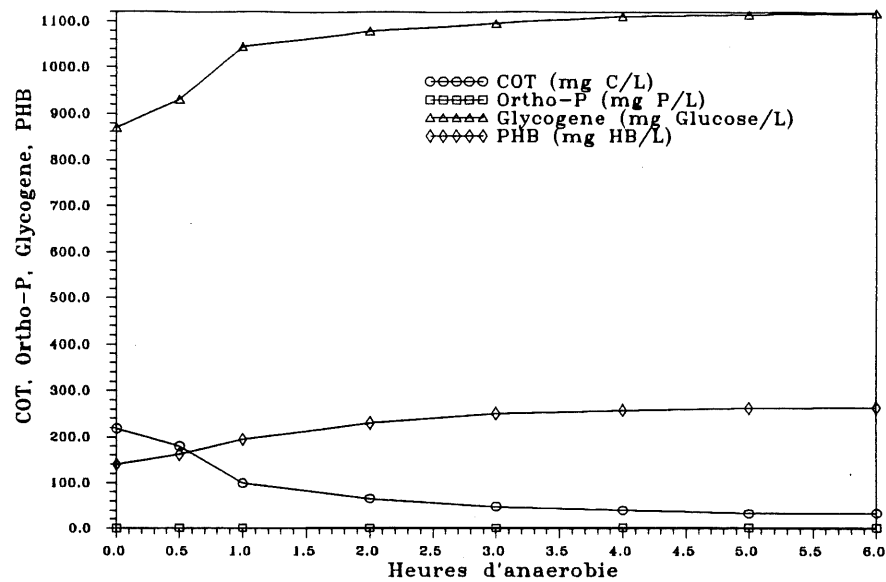


Figure 5.48. Comportement typique des paramètres analysés lors de la deuxième série d'essais en batch, quand la source de carbone pour la biomasse est sous forme de sucrose seul.

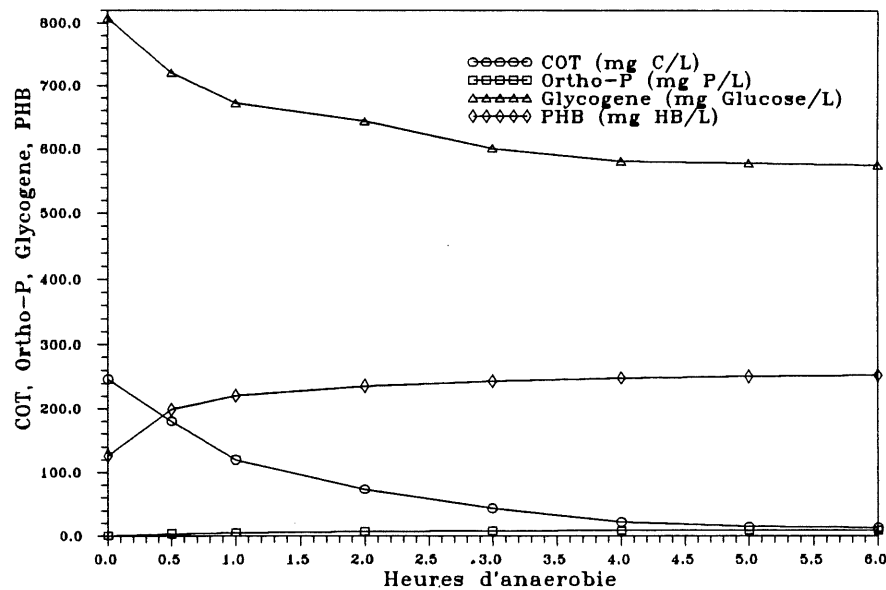


Figure 5.49. Comportement typique des paramètres analysés lors de la deuxième série d'essais en batch, quand la source de carbone pour la biomasse est seulement sous forme d'acétate de sodium.

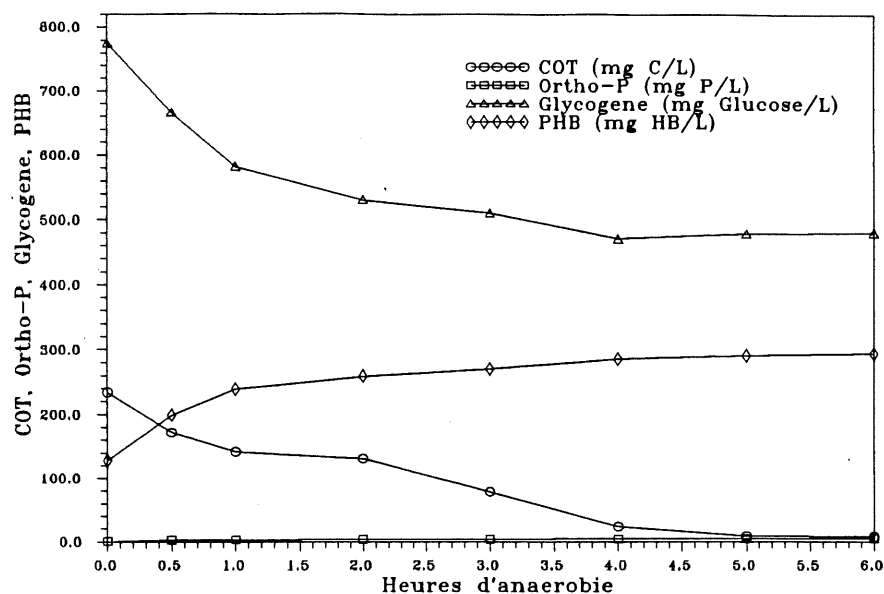


Figure 5.50. Comportement typique des paramètres analysés lors de la deuxième série d'essais en batch, quand la source de carbone pour la biomasse est un mélange de sucrose et d'acétate de sodium.

Le tableau 5.23 donne les quantités de substrat utilisé, les quantités de glycogène utilisé ou produit, et les quantités de PHB stockés par la biomasse provenant du deuxième système, après avoir été soumise à des conditions anaérobies en présence de différents substrats.

Tableau 5.23. Utilisation du substrat par la biomasse dans la deuxième série d'essais en batch réalisés pour l'étude du comportement du glycogène.

Essai	Source de carbone	Phosphore relargué (mg P / g MVS)	Substrat : COT utilisé (mg C / g MVS)	Glycogène utilisé (mg glucose / g MVS)	Glycogène produit (mg glucose / g MVS)	PHB produit (mg HB / g MVS)
II.S1	Sucrose	0.3	38.6	0	52.3	26.2
II.S2	Sucrose	0.4	39.4	0	54.1	23.6
II.A1	Acétate	1.5	50.3	89.8	0	39.3
II.A2	Acétate	1.3	47.3	93.1	0	44.1
II.(S+A)1	Succ.+Ac.	0.9	49.3	64.5	0	36.1
II.(S+A)2	Succ.+Ac.	0.8	51.1	67.1	0	34.2

En examinant les résultats compilés dans le tableau 5.23, on remarque que ce type de biomasse présente des caractéristiques différentes de la biomasse acclimatée à l'EBP. Cette biomasse qui n'accumulait pas les polyphosphates présente trois comportements vis à vis du glycogène sous des conditions d'anaérobie stricte, à savoir :

- Quand la source principale de carbone que l'on fournit aux bactéries est sous forme de sucres exclusivement, cette biomasse métabolise les sucres disponibles en solution pour stocker le glycogène et les PHB à l'intérieur de la cellule. Cependant, on notera que la quantité de glycogène produite est de 2.0 à 2.3 fois plus importante que la quantité de PHB stockée.

- Quand la seule source de carbone mise à la disposition de la biomasse est de l'acétate, le processus inverse à celui observé en présence d'un substrat, composé principalement de sucres, se produit. Ainsi, en présence exclusive des AGV, sous des conditions anaérobies, cette biomasse va utiliser ses réserves intra-cellulaires de glycogène pour produire les PHB et les stocker à l'intérieur des cellules bactériennes. L'AGV qui compose le substrat est aussi utilisé pour stocker les PHB. Les rapports entre la quantité de glycogène utilisé et les PHB stockés varient de 2.1 à 2.3.

- La dernière situation se produit quand cette biomasse est en présence d'un mélange de sucres et d'AGV. Dans ce cas, on assiste à un processus similaire à celui observé quand la biomasse dispose d'un substrat qui est composé exclusivement d'AGV. Cependant, dans les conditions d'un substrat composé d'un mélange de sucres et d'AGV, le rapport du glycogène utilisé par les PHB stockés est relativement faible et varie de 1.1 à 1.9.

En utilisant les données du tableau 5.23, on a pu calculer les rapports massiques par rapport au substrat utilisé dans chaque essai en batch du phosphore relargué, du glycogène et de PHB, pour cet autre type de biomasse. Les valeurs de ces rapports sont compilées dans le tableau 5.24.



Tableau 5.24. Rapports massiques par rapport au substrat utilisé dans deuxième série d'essais réalisés pour l'étude du comportement du glycogène.

Essai	Source de carbone	<u>P relargué</u> COT utilisé (mg P/mg C)	<u>Gly. utilisé</u> COT utilisé (mg Gl/ mg C)	<u>Gly. Produit</u> COT utilisé (mg Gl/ mg C)	<u>PHB Produit</u> COT utilisé (mg HB/mg C)
II.S1	Succrose	0.008	0	1.35	0.68
II.S2	Succrose	0.010	0	1.37	0.60
II.A1	Acétate	0.029	1.78	0	0.78
II.A2	Acétate	0.027	1.97	0	0.93
II.(S+A)1	Succ.+Ac.	0.018	1.31	0	0.73
II.(S+A)2	Succ.+Ac.	0.016	1.31	0	0.67

Gl. : Glucose, Gly. : Glycogène.

La comparaison des valeurs présentées par les tableaux 5.21 et 5.24, montre qu' aussi bien la biomasse non accumulatrice de polyphosphates que la biomasse bio-P accumulent les PHB en utilisant le substrat qui leur est fourni, sous des conditions anaérobies. Ce stockage intracellulaire de PHB est de même ordre de grandeur pour les deux genres de biomasses. Cependant, des quantités très importantes de glycogène sont stockées dans les cellules des bactéries non accumultrices de polyphosphates quand leur substrat est exclusivement sous forme de sucres. Toutefois on assiste à une utilisation très importante du glycogène disponible dans les cellules bactériennes non accumultrices de polyphosphates par rapport à ce que l'on observe quand la biomasse bio-P domine le système RBS.

### 5.6.3. Rôle du glycogène dans l'EBP

Il s'avère donc à travers ces expériences que le glycogène joue un rôle secondaire dans le métabolisme des bactéries bio-P. Ainsi, dans un système qui effectue un bon EBP, la biomasse active ne peut pas accumuler le glycogène sous des conditions aérobies ou l'utiliser dans son métabolisme sous des conditions anaérobies.

En se basant sur les résultats des essais que nous avons réalisés, Nous pouvons affirmer que le fait de considérer que le glycogène joue un rôle important dans le métabolisme des bactéries bio-P tel que décrit par Arun et al. (1989), et Smolders et al. (1994), n'est pas valable. Toutefois, il s'avère que dans un système d'EBP les deux types de bactéries (bio-P, et non accumulatrices de polyphosphates) sont généralement présentes et compétitionnent au niveau de l'utilisation du substrat. De même que la détection de concentrations en glycogène dans les boues activées de systèmes d'EBP ne peut pas justifier que le glycogène est essentiel dans le métabolisme de la biomasse bio-P. Des conclusions similaires à celles de nos expériences ont été obtenues par Liu et al. (1996). Ces chercheurs affirment que les bactéries non accumulatrices de polyphosphates, qui stockent le glycogène, et qu'ils ont dénommé "bactéries accumulatrices de glycogène", si elles sont présentes dans un système d'EBP, ne peuvent jouer que le rôle d'un "éboueur", c'est à dire qu'elles se manifestent quand la biomasse bio-P a déjà utilisé la quantité en substrat disponible qui lui est nécessaire pour dégrader les polyphosphates en phase anaérobie. Ces bactéries accumulatrices de glycogène peuvent aussi prédominer le système quand l'efficacité du système d'EBP est détériorée, et le fait de penser que la présence de ce type de biomasse est la principale cause de détérioration de l'efficacité d'EBP tel qu'avancé par Satoh et al. (1992) est à écarter. Tout de même, à ce stade, pour la confirmation des résultats de cette étude, des expériences à l'aide de stations pilotes d'EBP alimentées avec des eaux usées domestiques sont nécessaires.

## 6. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

### 6.1. Conclusions

Ce projet de recherche a nécessité de conduire des essais dans des réacteurs biologiques séquentiels et des essais en batch. Les conclusions qui se dégagent de ces travaux sont les suivantes:

- 1) L'utilisation de boues activées provenant d'une station d'épuration conventionnelle des eaux usées, pour ensemercer un réacteur biologique séquentiel, fonctionnant avec des séquences anaérobie/aérobie, peuvent s'acclimater au développement de l'enlèvement biologique du phosphore après une période importante d'acclimatation au substrat et au procédé de traitement (150 jours).
- 2) Pour un système d'enlèvement biologique du phosphore donné, et pour un substrat donné, les micro-organismes actifs dans l'enlèvement biologique du phosphore dans le système présentent une capacité maximale de stockage intracellulaire de polyphosphates. Cette capacité maximale s'avère être un paramètre important dans la cinétique de relargage des polyphosphates sous des conditions d'anaérobie.
- 3) La quantité de phosphore relarguée par une biomasse bio-P sous des conditions d'anaérobie est toujours bien corrélée à la quantité de phosphore utilisée en phase aérobie, et ceci est indépendant du système d'enlèvement biologique du phosphore considéré et c'est aussi indépendant du contenu spécifique en phosphore de la biomasse bio-P.
- 4) L'inoculation de boues activées conventionnelles avec des boues bio-P permet d'optimiser la période nécessaire au développement de l'enlèvement biologique du phosphore dans une usine d'épuration des eaux usées. La période d'acclimatation de la biomasse conventionnelle à l'enlèvement du phosphore est d'autant plus réduite que la quantité de boues bio-P utilisées pour l'ensemencement du système, au moment de son démarrage, est importante.

5) La cinétique du relargage de phosphore, dans un système d'EBP par un procédé RBS alimenté par un substrat à base d'un mélange de succrose, d'acétate et de bacto-peptone, suit une réaction de premier ordre. Cette cinétique peut être représentée par un modèle mathématique basé sur la capacité maximale de stockage intracellulaire de polyphosphates. Ce modèle permet de déterminer la constante de réaction de relargage du phosphore et la capacité maximale de stockage des polyphosphates, d'une biomasse bio-P, à partir d'un simple essai en batch de relargage au laboratoire sous des conditions anaérobies.

6) La constante de réaction de relargage croît avec la quantité d'AGV disponible aux bactéries sous les conditions d'anaérobie. Cependant, à partir d'une concentration en AGV autour de 165 mg DCO/L la quantité relarguée en phosphore n'augmentera pas même s'il on augmente la quantité en AGV mise à la disposition de la biomasse bio-P au delà de cette valeur de 165 mg DCO/L.

7) La température a une influence importante sur la constante de réaction de relargage du phosphore sous des conditions anaérobies. La dépendance de la cinétique de relargage du phosphore en fonction de la température peut être décrite par une équation similaire à celle d'Arrhénius pour une gamme de températures entre 10 °C et 25 °C avec une énergie d'activation de 48.2 kJ/mole. Ainsi l'activité biologique des bactéries bio-P relative au relargage du phosphore en anaérobiose, décroît avec la température. À une température de 10 °C, l'activité biologique des bactéries bio-P décroît de 1.8 à 1.9 fois par rapport celle que ces bactéries peuvent maintenir à une température de 20 °C, et ceci sous des conditions anaérobies et en présence d'une même concentration optimale d'AGV.

8) L'étude de l'inhibition de l'activité bactérienne de la biomasse bio-P, par les métaux lourds : chrome III, chrome VI, cuivre et plomb, dans un système d'EBP par RBS a montré qu'une réduction de 95% de l'activité bactérienne, vis à vis de l'enlèvement du carbone est obtenue à la même concentration spécifique en métal pour le chrome III, le cuivre et le plomb. Cette concentration spécifique est de 13.5 mg métal / g MVS. Cependant, en présence du chrome VI, une réduction équivalente de l'activité bactérienne, peut déjà avoir lieu à une concentration spécifique en chrome VI beaucoup plus faible : 4.1 mg chrome VI/ g MVS. Cela implique alors

que la toxicité du chrome VI, vis à vis de l'abattement de la pollution carbonée par les bactéries bio-P est plus importante que celle induite par le chrome III, le cuivre ou le plomb.

9) Le taux spécifique maximum de relargage du phosphore de la biomasse bio-P en phase anaérobie, et le taux spécifique maximum d'utilisation du phosphore en phase aérobie, se trouvent être réduits par la présence de métaux lourds dans un système d'EBP. Les modèles mathématiques représentant cette inhibition ont été développés dans cette étude. En général, l'inhibition de l'activité des bactéries, vis à vis de l'enlèvement biologique du phosphore, par les métaux lourds étudiés a été trouvée obéir à l'ordre d'agressivité suivant :  
chrome VI > cuivre > chrome III > plomb.

10) Le piégeage des métaux lourds par la biomasse bio-P s'avère suivre le modèle d'adsorption de l'isotherme de Langmuir. Les paramètres de ce modèle relatifs à chaque métal étudié nous ont montré que les boues bio-P présentent une facilité d'adsorption du chrome III plus grande que celle accordée au chrome VI. Cependant, le cuivre et le plomb s'adsorbent sur ces boues bio-P d'une façon plus importante que le chrome III et le chrome VI.

11) À travers les expériences réalisées, il s'avère que le glycogène, un polymère du glucose, joue un rôle secondaire dans le métabolisme des bactéries bio-P contrairement aux affirmations de quelques études antérieures : Arun et al. (1989), Satoh et al. (1992) et Smolders et al. (1994). Cependant, dans un système effectuant l'EBP, des bactéries dites "accumulatrices de glycogène" et dont le métabolisme est différent de celui des bactéries bio-P, peuvent participer à l'activité biologique du système. Un affluent qui peut ne pas être nécessairement riche en sucres, permet à ces bactéries "accumulatrices de glycogène" de dominer le système si cet affluent présente des concentrations très faibles en phosphore. Toutefois, on peut conclure que la détérioration de l'efficacité du système à enlever biologiquement le phosphore ne peut jamais être causée principalement par la présence de ces bactéries dans le système.

## **6.2. Recommandations**

En se basant sur les résultats de cette recherche, on pourra alors faire des recommandations quant à la poursuite de travaux de recherche dans le domaine de l'EBP:

- 1) Il serait opportun de vérifier la validité du modèle proposé pour décrire le relargage du phosphore, en utilisant des boues bio-P provenant d'un système d'EBP acclimaté à l'eau usée domestique à l'échelle pilote ou/et prototype.
- 2) Les modèles mathématiques d'inhibition de l'activité des bactéries bio-P par les métaux lourds ont été proposés seulement pour quelques métaux à savoir le chrome VI, le chrome III, le cuivre et le plomb, la validité de la formulation de ce modèle pour d'autres métaux tel que le zinc, le cadmium, le nickel, ..., est toutefois vraisemblable, mais des recherches sont nécessaires pour déterminer les paramètres d'inhibition relatifs à tous les métaux lourds qui peuvent se retrouver dans les affluents alimentant les stations d'épuration des eaux résiduaires.
- 3) Puisque le glycogène ne constitue pas la cause principale de la détérioration de l'efficacité des systèmes d'EBP tel que soutenu auparavant par quelques chercheurs, il sera alors nécessaire de diriger des efforts d'investigation vers d'autres causes de détérioration de l'activité de la biomasse dans les systèmes d'EBP.
- 4) Il serait aussi opportun d'effectuer des essais à l'aide d'inoculums supérieures à 12 % afin d'étudier la relation d'efficacité de l'EBP en fonction de la concentration de l'inoculum et du temps nécessaire pour atteindre la stabilité de l'efficacité de l'EBP par le système RBS.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABU-GHARARAH, Z.H, et C.W. RANDALL (1991). The effect of organic compounds on biological phosphorus removal., *Wat. Sci. Technol.*, 23: 585-594.

ABU-GHARARAH, Z.H., et C.W. RANDALL (1989). A proposed model for the anaerobic metabolism of short-chain fatty acids in enhanced biological phosphorus removal systems., *J. WPCF*, 61: 1729-1730.

ANDERSON, K., T.G. KOOPMEN, et G.A. TRUESDALE (1988). Evaluation of INT-dehydrogenase assay for heavy metal inhibition of activated sludge., *Wat. Res.*, 22(3): 349-353.

APHA, AWWA, et WEF (1992). *Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association, 18<sup>th</sup> edition, Washington, D.C.

APPELDOORN, K., G.J.J. KORTSTEE, et A.J.B. ZEHNDER (1992). Biological phosphate removal by activated sludge under defined conditions, *Wat. Res.*, 26(4): 453-460.

ARORA, M.L., E.F. BARTH, et M.B. UMPHERS (1985). Technology evaluation of sequencing batch reactors. *J. WPCF.*, 57(8): 867-875.

ARUN, V., T. MINO, et T. MATSURO (1989). Metabolism of carboxylic acids located in and around glycolytic pathway and the TCA cycle in biological phosphorus removal process. *Wat. Sci. Technol.*, 21: 363-374.

ARUN, V., T. MINO, et T. MATSUO (1988). Biological mechanism of acetate uptake mediated by carbohydrate consumption in excess phosphorus removal systems., *Wat. Res.*, 22(5): 565-570.

ARVIN, E. (1985). Biological removal of phosphorus from wastewater. *CRC Crit. Rev. Environ. Control.*, 15: 25-65.

ARVIN, E., et G.H. KRISTENSEN (1985). Exchange of organics, phosphate and cations between sludge and water in biological phosphorus removal processes. *Wat. Sci. Technol.*, 17(11/12): 147-162.

ASANO, T., et R.S. MADANCY (1982). Water reclamation efforts in the United States. *Water Reuse.*, Ann. Arbor Science., 277 p.

BARNARD, J.L. (1976). A review of the biological phosphorus removal in the activated sludge process., *Water S.A.*, 2: 136-

BARNARD, J.L. (1979). Biological nutrient removal without the addition of chemicals. *Wat. Res.*, 9: 485-490.

- BARNARD, J.L. (1982). The influence of nitrogen on phosphorus removal in activated sludge plants., *Wat. Sci. Technol.*, 14 : 31-45.
- BARNARD, J.L. (1984). Activated primary tanks for phosphate removal. *Water S.A.*, 10: 121-126.
- BARNARD, J.L., G.M. STEVENS, et P.J. LESLIE (1985). Design strategies for nutrient removal plants., *Wat. Sci. Technol.*, 17(11/12): 233-242.
- BATTISTONI, P., G. FAVA, et M.L. RUELLO (1993). Heavy metal shock load in activated sludge uptake and toxic effects., *Wat. Res.*, 27(5): 821-827.
- BEACHAM, A.J., R.J. SEVIOUS, et K.C. LINDREA (1992). Polyphosphate accumulating abilities of *Acinetobacter* isolates from a biological nutrient removal pilot plant - research note., *Wat. Res.*, 26(1): 121-122.
- BENEFIELD, L.D., et C.W. RANDALL (1980). *Biological process design for wastewater treatment*. Printice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- BENMOUSSA, H., G. MARTIN, Y. RICHARD, et A. LEPRINCE (1986). Etude de l'inhibition de la nitrification par les cations de métaux lourds., *Wat. Res.*, 20(11): 1333-1339.
- BEST, A.G., C.J. HATTON, A.J. RACHWAL, et B. HURLEY (1985). Biological phosphorus and nitrogen removal at experimental full-scale plant in U.K., *Wat. Sci. Technol.*, 17(11/12): 213-232.
- BITTON, G., et V. FREIHOFER (1978). Influence of extracellular polysaccharides on toxicity of Cooper and Cadmium towards *Klebsiella aerogenes*., *Microb. Ecol.*, 4: 119-125.
- BORDACS, K., et S.C. CHIESA (1989). Carbon flow patterns in enhanced biological phosphorus accumulating activated sludge cultures., *Wat. Sci. Technol.*, 21: 378-388.
- BORTONE, G., S. GEMELLI, A. RAMBALDI, et A. TILCHE (1992). Nitrification, denitrification and biological phosphorus removal in sequencing batch reactors treating piggyery wastewater., *Wat. Sci. Technol.*, 25(5/6): 977-985.
- BREAM, F., et A. KLAPWIJK (1981). Effect of Cooper on nitrification in activated sludge disposal., *Wat. Res.*, 15(9): 1093-1098.
- BRODISH, K.E.U. (1985) Interaction of different groups of micro-organisms in biological phosphate removal., *Wat. Sci. Technol.*, 17(11/12): 89-98.
- BRODISH, K.E.U., et S.J. JOYNER (1983). The role of micro-organisms in biological phosphate removal., *Wat. Sc. Technol.*, 15(3/4): 117-125.



BROWN, M.J., et J.N. LESTER (1979). Metal removal in activated sludge : the role of bacterial extracellular polymers., *Wat. Res.*, 13: 817-837.

BUCHAN, L. (1983). The location and nature of accumulated phosphorus in seven sludges from activated sludge plants which exhibited enhanced phosphorus removal., *Water S.A.*, 7: 1-7.

CARUCCI, A., M. MAJONE, R. RAMADORI, et S. ROSSETTI (1994). Dynamics of phosphorus and organic substrates in anaerobic and aerobic phases of sequencing batch reactor., *Wat. Sci. Technol.*, 30(6): 237-246.

CECH, J.S., et P. HARTMAN (1993). Competition between polyphosphate and polysaccharide accumulating bacteria in enhanced biological phosphate removal systems., *Wat. Res.*, 27(7): 1219-1225.

CHENG, M.H., J.W. PATTERSON, et R.A. MINEAR (1975). Heavy metals uptake by activated sludge. *J. WPCF.*, 47(2): 362-376.

CHERDYNTSEVA, L.M. (1982). Toxic effect of zinc on *Pseudomonas fluorescens.*, *Hydrobiol. J.*, 18: 88-

CHIESA, S.C., et J.A. PASTIGLIONE (1987). Effect of variable influent loading on biological phosphorus removal. *Jour. Env. Eng. - ASCE*, 113(5): 1058-1073.

COMEAU, Y. (1990). La déphosphatation biologique, métabolisme microbien., *Sciences et Techniques de l'eau.*, 23(1): 47-60.

COMEAU, Y., B. RABINOWITZ, K.J. HALL, et W.K. OLDHAM (1987). Phosphate release and uptake in enhanced biological phosphorus removal from wastewater., *J. WPCF.*, 59(7): 707-714.

COMEAU, Y., J.H. KENNETH, et W.K. OLDHAM (1990). Indirect polyphosphate quantification in activated sludge., *Wat. Poll. Res. J. Canada.*, 25(2): 161-174.

COMEAU, Y., K.J. HALL, et W.K. OLDHAM (1985). A biochemical model for biological enhanced phosphorus removal., *Wat. Sci. Technol.*, 17: 313-314.

COMEAU, Y., K.J. HALL, et W.K. OLDHAM (1986). Biochemical model for enhanced biological phosphorus removal. *Wat. Res.*, 20(12): 1511-1521.

COOKE, D.G., E.R. WELCH, S.A. PETERSON, et E.R. NEWROTH (1986). *Lake and reservoir.*, Butterworths Publishers.

DAWES, E. A., et P.J. SENIOR (1973). The role and regulation of energy reserve polymers in micro-organisms. *Adv. Microbial Physiol.*, 10: 135-266.

- DIENÉMA, M.H., L.H.A. HABETS, J. SCHOLTEN, E. TURSTRA, et H.A.A.M. WEBERS (1980). The accumulation of polyphosphate in *Acinetobacter* spp., *FEMS Microb. Lett.*, 9: 275-279.
- DILEK, F.B., et U. YETIS (1992). Effects of heavy metals on activated sludge process. *Wat. Sci. Technol.*, 26(3/4): 801-813.
- DOLD, P.L. (1991). Modification du modèle général des boues activées pour y inclure la déphosphatation biologique. *Sciences et Techniques de l'eau.*, Août 1991: 229-243.
- DOLD, P.L., et G.V.R. MARAIS (1986). Evaluation of the general activated sludge model proposed by the IAWPRC task group. *Wat. Sci. Technol.*, 18: 63-89.
- DORIA-SERRANO, M., S. GONZALEZ-MARTINEZ, et M. HERNANDEZ-ESPARSA (1992). Biochemical models for phosphate accumulating micro-organisms., *Wat. Sci. Technol.*, 26(9/11): 2245-2248.
- DUNCAN, A., G.E. VASILADIS, R.C. BAYLY, et J.W. MAY (1988). Geonospices of *Acinetobacter* isolated from activated sludge showing enhanced removal of phosphate during pilote-scale treatment of sewage., *Biotechnol. Lett.*, 10: 831-836.
- EDWARDS, J.P., et P.E. NUSBERGER (1947). The effect of chromate wastes on the activated sludge process at Tallsman Island Plant., *Sewage Works.*, 19: 598-
- EKAMA, G.A., et G.V.R. MARAIS (1986). The implication of the IAWPRC hydrolysis on low F/M bulking., *Wat. Sci. Technol.*, 18: 11-19.
- FERGUSON, J.F., et R.L. HORRES (1979). Tow step precipitation of calcium phosphate from wastewater. *Prog. Water Technol.*, 1: 157-
- FUHS, G.W., et M. CHEN (1975). Microbiological basis of phosphate removal in the activated sludge process for the treatment of wastewater., *Microbial Ecology.*, 2: 119-138.
- FUKASE, T., M. SHIBATA, et Y. MIYAJI (1982). Studies on the mechanism of biological phophorus removal. *Japan J. Wat. Poll. Res.*, 22(1): 29-36.
- FUKASE, T., M. SHIBATA, et Y. MIYAJI (1985). The role of anaerobic stage on biological phosphorus removal., *Wat. Sci. Technol.*, 17(2/3): 69-80.
- GERBER, A., E.S. MOSTERT, C.T. WINTER, et R.H. VILLIERS (1986). The effects of acetate and other short chain carbon compounds on the kinetics of biological nutrient removal., *Water S.A.*, 12: 7-12.
- GERBER, A., E.S. MOSTERT, C.T. WINTER, et R.H. VILLIERS (1987). Interactions between phosphate nitrate and organic substrate in biological nutrient removal process., *Wat. Sci. Technol.*, 19: 183-194.

GERBER, A., et C.T. WINTER (1984). The influence of extended anaerobic retention time on the performance of Phoredox nutrient removal plants., *Wat. Sci. Technol.*, 17: 81-92.

GERHARDT (1994). *Methods for General and Molecular Bacteriology*. American Society for Microbiology., Washington, D.C.

GERSBERG, R.M., et D.W. ALLEN (1985). Phosphorus uptake by *Klebsilla Pneumoniae* and *Acinetobacter Calcoaceticus*., *Wat. Sci. Technol.*, 17(11/12): 113-118.

GOCKAY, C.F., et U. YETIS (1991). Effect of chromium (VI) on activated sludge., *Wat. Res.*, 25(1): 65-67.

GRAY, N.F. (1989). *Biology of Wastewater Treatment*., Oxford Science Publications.

GROS, H., et B. MORGELI (1980). Optimal advanced treatment and phophorus removal by deep bed filtration., *Prog. Water Technology*., 12:315-

HACH (1992). Water analysis Handbook, 2<sup>th</sup> edition, Lovenland, USA, 831 p.

HAROLD, F.M. (1966). Inorganic polyphosphates in biology: structure, metabolism, and function. *Bacteriol. Rev.*, 30: 772-794.

HAROLD, F.M., et E. LEVIN (1974). Lactic Acid translocation: terminal step in glycolysis by *Streptococcus Foecalis*., *J. Bacteriol.*, 117(3): 1141-1148.

HAROLD, F.M., et E. SPITZ (1975). Accumulation of arsenate, phosphate, and asparate by *Streptococcus Foecalis*., *J. Bacteriol.*, 122: 266-277.

HART, M.A., et L.N. MELMED (1982). Microbiology of nutrient removing activated sludge., *Wat. Sci. Technol.*, 14: 1501-1502.

HARTIG, J.H., et F.J. HORVATH (1982). A priliminary assessment of Michigan's phosphorus detergent ban., *J. WPCF*., 54: 193-197.

HASCOET, M.C., et M. FLORENTZ (1985b). Influence of nitrate on biological phosphorus removal from wastewater., *Water S.A.*, 11(1): 1-8.

HASCOET, M.C., M. FLORENTZ, et P. GRANGER (1985a). Biochemical aspects of enhanced biological phosphorus removal from wastewater., *Wat. Sci. Technol.*, 17(11/12): 23-42.

HEIDTKE, T.M., et W.C. SONZOGNI (1986). Water quality management for the Great Lakes., *J. Wat. Resources Plan. Manag.*, 112(1): 48-63.

HELMER, C., et P.S. KUNST (1996). Influence of varying temperatures on bacterial populations in EBPR plants. Poster MBP 10, IAWQ conf. Singapoure, 24-28 Juin 1996.

HENDERSON-SELLERS, B., et H.R. MARKLAND (1987). *Decaying Lakes.*, John-Wiley&Sons., Great Britain.

HEYMANN, J.B., L.M. EAGLE, H.A. GREBEN, et D.J.J. POTGIETER (1989). The isolation and characterisation of volutin granuls as subcellular components involved in biological phosphorus removal., *Wat. Sci. Technol.*, 21: 397-408.

HOOVER, F.F. (1973). Origin and fate of organic phosphorus in aquatic systems., *Environmental Phosphorus Handbook.*, pp.179-

HORAN, N.J. (1990). *Biological Wastewater treatment System, Theory and Operation.*, Jhon-Willey & Sons, Englood., 310 p.

INAMORI, Y., Y. KUNYASU, R. SUDO, et M. KUGA (1991). Control of the growth of filamentous micro-organisms using predacious ciliated protozoa., *Wat. Sci. Technol.*, 23 : 963-971.

IWEMA, A., et A. MEUNIER (1985). Influence of nitrate on acetic acid induced biological phosphorus removal., *Wat. Sci. Technol.*, 17: 289-294.

JENKINS, D., M.G. RICHARD, et G.T. DAIGGER (1986). *Manual on the causes and control of activated sludge bulking and foaming.*, Water Research Commission, Pretoria.

JING, S.R., L.D. BENEFIELD, et W.E. HILL (1992). Observations relating to enhanced phosphorus removal in biological systems., *Wat. Res.*, 26(2): 213-223.

JONES, S.R., A.D. TADWALKAR, et C.L. HSU (1987). Enhanced uptake of phosphorus by activated sludge - effect of substrate addition., *Wat. Res.*, 21(3): 213-223.

JUNI, E. (1978). Genetics and physiology of *Acinetobacter*. *Ann. Rev. Microbiol.*, 32: 349-371.

KASAN, H.C. (1993). The role of waste acticated sludge and bacteria in metal-ion removal from solution., *Critical Reviews in Environmental and Technology.*, 23(1): 79-117.

KERDACHI, D.A., et K.J. HEALAY (1987). The reliability of cold perchloric acid extraction to assess metal-bound phosphates., *Advances in Water Poll. Control : Biological Phosphate Removal from Wastewaters*, R. Ramadori (ed.), pp. 339-342.

KERDACHI, D.A., et M.R. ROBERTS (1983). Full-scale phosphate at Pinetowns in Umhlatuzana works at different sludge ages., *Wat. Sci. Technol.*, 15(3/4): 261-281.

KNOETZE, C., T.R. DAVIES, et S.G. WIECHERS (1980). Chemical inhibition biological nutrient removal process., *Water S.A.*, 6(4): 171-180.

- KOKCAY, C.F., et U. YETIS (1991). Effect of Chromium (VI) on activated sludge. *Wat. Res.*, 25(1) : 65-73.
- KUBA, T., A. WACHTMEISTER, M.C.M. VAN LOOSTRECHT, et J.J. HEIJNEN (1994). Effect of nitrate on phosphorus release in biological phosphorus removal systems., *Wat. Sci. Technol.*, 30(6): 263-269.
- KULAEV, I.S. (1979). *The biochemistry of inorganic phosphates.*, Traduit du Russe par R.F. Broogs., Jhon-Wiley & Sons, NT., 255 p.
- KULAEV, I.S., et V.M. VARABOV (1983). Polyphosphate metabolism in micro-organisms., *Adv. Microb. Physiol.*, 24: 83-171.
- KUNZ, R.G., G.F. GIANELLI, et H.D. STENSEL (1976). Vanadium removal from waste waters., *J. WPCF.*, 48:762-770.
- LAMB, A., et E.L. TOLLEFSON (1973). Toxic effects of Cupric, Chromate and Chromic ions on biological oxidation., *Wat. Res.*, 7: 599-613.
- LAN, J.C., L. BENEFIELD, ET C.W. RANDALL (1983). Phosphorus removal in the activated sludge process., *Wat. Res.*, 17:1193-1200.
- LEVIN, G.V., et J. SHAPIRO (1965). Metabolic uptake of phosphorus by wastewater organisms. *J. WPCF.*, 37: 800-821.
- LIU, W-T., T. MINO, K. NAKAMURA, et T. MATSUO (1996). Glycogen accumulating population and its anaerobic substrate uptake in anaerobic activated sludge without biological phosphorus removal. *Wat. Res.*, 30 (1) : 75-82.
- LÖTTER , L.H. (1985). The role of bacterial phosphate metabolism in enhanced biological phosphorus the activated sludge process., *Wat. Sci. Technol.*, 17: 127-138.
- LÖTTER, L.H., et I. DUBERY (1989). Metabolic regulation of  $\beta$ -hydroxybutyrate dehydrogenase in *Acinetobacter Calcoaceticus* var. *Lowoffi.*, *Water S.A.*, 15: 65-71.
- LÖTTER, L.H., et R. PITMAN (1992). Improved biological phosphorus removal resulting from he from enrichment of reactor feed with fermentation products., *Wat. Sci. Technol.*, 26(5/6) : 943-953.
- LÖTTER, L.H., M.C. WENTZEL, R.E. LOWENTHAL, G.A. EKAMA, et G.V.R. MARAIS (1985). A study of selected characteristics of *Acinetobacter* Spp. isolated from activated sludge in anaerobic/anoxic/aerobic and aerobic systems., *Water S.A.*, 12(4): 203-208.
- MADONI, P., D. DAVOLI, G. GORBI, et L. VESCOVI (1996). Toxic effect of heavy metals on the activates sludge Protozoan community., *Wat. Res.*, 30(1): 135-141.

MAKENTHUM, K.M. (1973). Eutrophication and biological associations., *Environmental Phosphorus Handbook*., pp. 613-632.

MALNOU, D., M. MEGANCK, G.M. FAUP, et M. ROSTU (1984). Biological phosphorus removal. Study of the main parameters. *Wat. Sci. Technol.*, 16(10/11): 173-185.

MAMAI, D., et D. JENKINS (1992). The effects of MCRT and temperature on enhanced biological phosphorus removal., *Wat. Sci. Technol.*, 26(5/6): 955-965.

MANNIG, J.F., et R.L. IRVINE (1985). The biological removal of phosphorus in sequencing batch reactors., *J. WPCF*., 57(1): 87-94.

MARAI, G.V.R., R.E. LOWENTHAL, et I.P. SIERBITZ (1983). Observations supporting phosphate removal by biological excess uptake - a Review., *Wat. Sci. Technol.*, 15(3/4): 15-41.

MARKLUND, S., et S. MORLING (1994). Biological removal at temperatures from 3 to 10 °C a full-scale study of sequencing batch reactor unit., *Can. J. Civ. Eng.*, 21:81-88.

MATSUO, Y. (1994). Effect of anaerobic solids retention time of enhanced biological phosphorus removal., *Wat. Sci. Technol.*, 30(6): 193-202.

MAZIERSKI, J. (1995). Effect of Chromium ( $\text{Cr}^{\text{VI}}$ ) on the growth rate of activated sludge bacteria., *Wat. Res.*, 29(6): 1479-1482.

MCCLINTOCK, S.A., C.W. RANDALL, et V.M. PATTARKINE (1991). Effects of temperature and Mean Cell Residence Time on Enhanced biological phosphorus removal., *Env. Eng. - ASCE*. P.A. Krenkel (éd.), pp. 319-324.

MEGANCK, M.T.J., et G.M. FAUP (1988). Enhanced biological phosphorus removal from wastewaters., *Biotreatment systems, vol. III*., D.L. Wise & Labot Eds., CRC. Press. Inc. Boca Raton., Florida. pp. 111-203.

METCALF & EDDY INC. (1991). *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, Reuse*., McGraw-Hill Book Comp., NY.

MICHAUD, C., M. MARIN, N. RONDEAU, et R. LEDUC (1994). Déphosphatation par les plantes aquatiques flottantes., *Sciences et Techniques de l'eau*., 27(3): 33-40.

MINO, T., T. KAMAKANI, et T. MATSUO (1985). Behavior of intracellular polyphosphate in the biological phosphate removal process. *Wat. Sci. Technol.*, 17(11/12) : 11-12.

MINO, T., V. ARUN, Y. TSUZUKI, et T. MATSUO (1987). Effect of phosphorus accumulation on acetate metabolism in the biological phosphorus removal process., *Comptes rendus IAWPRC Conf., Biological Phosphate Removal from Wastewater*., Rome, Italie, *Adv. Water Poll. Control*., Ramadori R. (ed.), pp. 27-38.

MIYAMOTO-MILLS, J, J. LARSO, D. JENKINS, et W. OWEN (1983). Design and operation of a pilot -scale biological phosphate removal plant at the Central Contra Sanitary District., *Wat. Sci. Technol.*, 15(3/4): 153-180.

MOWAT, A. (1976). Measurement of metal toxicity of biochemical oxygen demand., *J. WPCF.*, 48: 853-866.

NARASIAH, K.S., J. SHOIRY, et C. MORASSE (1990). Effets des variations des températures saisonnières sur les modifications des phosphates dans les eaux usées. *Revue des Sciences de l'eau.*, 1(4): 305-320.

NEUFIELD, R.D. (1976). Heavy metals induced deflocculation of activated sludge. *J. WPCF.*, 48: 1940-1947.

NICOLLS. H.A., et D.W. OSBORN (1979). Bacterial stress pre-requisite for biological removal of phosphorus., *J. WPCF.*, 51(3): 534-556.

OCDE (ORGANISATION DE COOPÉRATION ET DE DÉVELOPPEMENT), (1982). *Eutrophication of waters: Monitoring, Assessment and Control.*, Paris.

OKADA, M., C.K. LIN, Y. KATAYAMA, et A. MURAKAMI (1992). Stability of phosphorus removal and population of bio-P bacteria under short term disturbances in sequencing batch reactor activated sludge process., *Wat. Sci. Technol.*, 26(3/4): 483-491.

OLDHAM, W.R., et H.P. DEW (1979). Cold temperature operation of Bardenpho process. Presented at 14<sup>th</sup> Canadian Symposium on water Pollution Research.

OLIVIER, B.G., et E.G. COSGAROVE (1974). The efficiency of heavy metal removal by conventionnel activated sludge treatment plant., *Wat. Res.*, 8: 869-874.

PAEPCKE, B.H. (1983). Performance and operational aspects of biological phosphate removal plants in South Africa., *Wat. Sci. Technol.*, 15(3/4) : 219-232.

PATTARKINE, V.M., S.A. MCCLINTOCK, et C.W. RANDALL (1990). The role of metal in biological phosphorus removal., *Env. Eng. - ASCE*, C.R. Melia (éd.), pp. 337-343.

PITMAN, A.R., S.L.V. VENTER, et H.A. NICOLLS (1983). Practical experience with biological phosphorus removal plants in Johannesburg., *Wat. Sci. Technol.*, 15(3/4): 233-260.

POKETHIYOOK, P., S.A. MCCLINTOCK, et C.W. RANDALL (1990). The role of nitrate in biological phosphorus removal., *ASCE, Env. Eng.*, C.R. Melia (ed.), pp. 330-336.

POON, C.P.C. (1973). Electrochemical process for sewage treatment., *Eng. Bull. Purdue Univ., Eng. Ext. Sev.*, pp. 142-

POON, C.P.C., et K.H. BHAYANI (1971). Metal toxicity to sewage organisms., *J. Sanit. Eng. Div., ASCE*, N° SA2., 97: 161-169.

POTGIETER, D.J.J., et B.W. EVANS (1983). Biochemical changes associated with luxury phosphate uptake in a modified Phoredox activated sludge system. *Wat. Sci. Technol.*, 15: 105-115.

QASIM, S.R. (1985). *Wastewater Treatment Plants, Planning, Design, and Operation*. CBS College Publishing., NY., 726p.

RAPER, W.G.C. (1983). Biologically enhanced removal of phosphorus from domestic wastewater. *10<sup>th</sup> Fed. Conven. Australian Water and Wastewater Assoc.*, pp17-1 à 17-11.

REDDY, K.R., et W.F. DEBUSK (1985). Nutrient removal potential of selected aquatic macrophytes. *J. of Environ. Quality.*, 15(4): 459-462.

REDDY, M., S. KELLY, B. HALE, R. READON, et B. KOOPMAN (1987). Development of operational control strategies for biological nitrogen and phosphorus removal treatment facility., *ASCE-Env. Eng., J. Dietz ed.*, pp. 69-78.

RENSINK, J.H., H.J.G.W. DONKER, et H.P. DE VARIES (1981). Biological P-removal in domestic wastewater by the activated sludge process. *Proc. du 5<sup>em</sup> Symposium Européen sur "Sewage and Refuse"*, Munich, pp. 487-502.

RICKARD, L.F., et S.A. MCCLINTOCK (1992). Potassium and magnesium requirements for enhanced biological phosphorus removal from wastewater. *Wat. Sci. Technol.*, 26(9/11): 2203-2206.

RYDING, S.O., et W. RAST (1989). *The Control of Eutrophication of Lakes and reservoirs*. 1., UNESCO., Paris.

SATOH, H., T. Mino, et T. MATSUO (1992). Uptake of organic substrates and accumulation of polyhydroxyalkanoates linked with glycolysis of intracellular carbohydrates under anaerobic conditions in the biological excess phosphate removal processes., *Wat. Sci. Tech.*, 26(5/6): 933-942.

SELL, R.L., D.J. KRICHTEN, O.J. NOICHL, et D.G. HARTZOG (1981). Low temperature biological phosphorus removal., *54<sup>th</sup> WPCF Conf. Detroit.*, pp 1-16.

SEMSARI, S., et A. GAÏD (1994). Inhibition de l'activité des boues activées en présence de Chrome III., *Env. Technol.*, 15: 255-262.

SENIOR, P.J., G.A. BEECH, G.A.F. RITCHIE, et E.A. DAWES (1972). The role of oxygen limitation in the formation of poly- $\beta$ -hydroxybutyrate during batch and continuous culture of *Azotobacter beijerinckii*., *Biochem. J.*, 128: 1193-1201.



- SHAO, Y.J., F. WADA, V. ABKIAN, J. CROSSE, B. HORENTEIN, et D. JENKINS (1992). Effects of MCRT on enhanced biological phosphorus removal., *Wat. Sci. Technol.*, 26(5/6): 967-976.
- SHODA, M., T. OHSUKI, et S. VDAKA (1980). Screening for high phosphate accumulating bacteria., *Agric. Biol. Chem.*, 44: 319-324.
- SIERBITZ, I.P. G.A. EKAMA, et G.V.R. MARAIS (1983). A parametric model for biological excess phosphorus removal., *Wat. Sci. Technol.*, 15: 127-152.
- SMOLDERS, G.J.F., J. VAN DER MEIJ, M. C.M. VAN LOOSDRECHT, et J.J. HEIJNEN (1994). Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process: stoichiometry and pH influence., *Biotechnol. and Bioeng.*, 43 (6): 461-470.
- SOMIYA, I., H. TSUNO, et M. MATSUMUTO (1988). Phosphorus release-storage reaction and organic substrate behavior in biological phosphorus removal., *Wat. Res.*, 22(1): 49-58.
- SPATZIERER, G., C. LUDWIG, et N. MATSCHE (1985). Biological phosphorus removal in combination with simultaneous precipitation., *Wat. Sci. Technol.*, 17(11/12): 163-176.
- STANIER, R.Y., E.A., ADELBERG, et J.L., ET J.L. INGRAHAM (1986). *The microbial world.*, 5<sup>ème</sup> éd., Prentice-Hall, Englewood Cliffs., NJ.
- STREICHAM, M., J.R.GOLECK, et G. SCHON (1990). Polyphosphate-accumulating bacteria from sewage plants with different processes for biological phosphorus removal.. *FEMS Microbiol. Ecology.*, 73: 113-124.
- SUPELCO INC. (1994). Analyzing fatty acids by capillary Gaz Chromatography. Bulletin 855A.
- SURESH, N., R. WARBURG, J. TIMMERMAN, J. WELLS, M. COCCIA , M.F. ROBERTS, et H.O. HALVORSON (1985). New strategies for the isolation of micro-organisms responsible for phosphate accumulation., *Wat. Sci. Technol.*, 17(11/12): 99-111.
- TCHABANOGLIOUS, G., et E.D. SCHROEDER (1987). *Water Quality , Characteristics, Modeling, Modification .*, Addison-Wesley Publishing Comp., 769p.
- TETREAULT, M.J., A.H. BENEDICT, C. KAEMPFER, et E.F. BORTH (1986). Biological phosphorus removal : a technology evaluation., *J. WPCF.*, 58: 823-837.
- THE SOAP & DETERGENT ASSOCIATION (1989). *Principles and practice of phosphorus removal from municipal wastewater.*, NY.
- THOMAS, E.A. (1973). Phosphorus and Eutrophication., *Environemental Phosphorus Handbook.*, pp. 586-611.

THOMAS, H.A. Jr. (1950). Graphical determination of B.O.D. curve constants. *Water & Sewage Works*, Mars, pp. 123-124.

TRACY, K.D., et A. FLAMINO (1987). Biochemistry and energetics of biological phosphorus removal., *Biological phosphate Removal from Wastewater Conf. IAWPRC, Adv. Wat. poll. Control.* N° 4., pp. 15-26.

TYAGI, R.D., (1985). Effects of heavy metals on biological waste treatment in the activated sludge process., *Process Biochem.*, 20(6): 194-198.

TYAGI, R.D., et D. COUILLARD (1988). Toxic effects of inhibitors in biological wastewater treatment processes., *Can. J. of Chem. Eng.*, 66: 97-106.

US EPA (1974). *Process design for phosphorus removal.*, USEPA 625/1-76/001a., NTIS N° PB-259150. USEPA, Center for Environmental Research Information, Cincinnati, OH.

US EPA (1987). *Phosphorus removal. Design manual.* USEPA 625/1-87/001. USEPA, Center for Environmental Research Information, Cincinnati, OH.

US WRC (Water Resources Council) (1978). *Summary report: the Nation's Water Resources*, The second national assessment.

VACKER, D., C.H. CONNELL, et W.N. WELLS (1967). Phosphate removal through municipal wastewater treatment at San Antonio, Texas., *J. WPCF.*, 39: 750-771.

VELDKAMP, R.G. (1984). Modeling phosphate sludge production., *Wat. sci. Technol.*, 17: 107-119.

VILLE DE MAGOG (1995). *Station d'épuration des eaux usées de Magog.* Brochure d'information produite par le Service des Communications et le Service d'Environnement de la ville.

WANNER, J., et L. NOVAK (1990). The influence of particulate substrate on filamentous bulking and phosphorus removal in activated sludge systems., *Wat. Res.*, 24(5): 573-581.

WAREHAM, D.G., et N.P. LEE (1996). Effect of shorting anaerobic HRT on phosphate release and uptake in the UCT bio-P process., *Environmental Technology*, 17: 125-136.

WEDI, D. (1992). Effects of an activated sludge primary settling tank on biological phosphorus removal., *Wat. Sci. Technol.*, 26(9-11): 2199-2202.

WELLS, W.N. (1969). Differences in phosphate uptake rates exhibited by activated sludges. *J. WPCF.*, 41: 765-771.

WENTZEL, M.C., L.H. LÖTTER, G.A. EKAMA, R.R. LOEWENTHAL, et G.V.R. MARAIS (1991). Evaluation of biochemical models for biological excess phosphorus removal. *Wat. Sci. Technol.*, 23 : 567-576.

WENTZEL, M.C., L.H. LÖTTER, R.E. LOEWENTHAL, et G.V.R. MARAIS (1986). Metabolic behavior of *Acinetobacter* Spp. in enhanced biological phosphorus removal - a biochemical model., *Water. S.A.*, 12 (4): 209-224.

WENTZEL, M.C., L.H. LÖTTER, R.E., G.A. EKAMA, R.E. LOEWENTHAL, et G.V.R. MARAIS (1988). Enhanced polyphosphate organism cultures in activated sludge systems. Part I: Enhanced culture development., *Water S.A.*, 14(2): 81-92.

WENTZEL, M.C., P.L. DOLD, G.A. EKAMA, et G.V.R. MARAIS (1985). Kinetics of biological phosphorus release., *Water Sci. Technol.*, 17(11/12): 57-71.

WENTZEL, M.C., P.L. DOLD, G.A. EKAMA, et G.V.R. MARAIS (1989a). Enhanced polyphosphate organism cultures in activated sludge systems. Part II: Experimental behavior., *Water S.A.*, 15(2): 71-88.

WENTZEL, M.C., P.L. DOLD, G.A. EKAMA, et G.V.R. MARAIS (1989b). Enhanced polyphosphate organism cultures in activated sludge systems. Part III: Kinetic model., *Water S.A.*, 15(2): 89-102.

WENTZEL, M.C., P.L. DOLD, R.E. LOEWENTHAL, G.A. EKAMA, et G.V.R. MARAIS (1987). Experiments towards establishing the kinetics of biological excess phosphorus removal. *Comptes rendus IAWPRC Biological Phosphate Removal from wastewater.*, Rome, Italie., *Adv. Water Poll. Control Conf.*, pp. 79-97.

WETZEL, R.C. (1975). *Limnology.*, Saunders comp.

WIECHERS, H.N.S. (éd), (1987). *Guidlines for chemical phosphate removal from municipal wastewater.* Water Research commission., Pretoria.

WINKLER, M.A., et A. THOMAS (1978). Biological treatment of aqueous waste . *Topics in Enzyme Fermentation Biotechnology.*, 1: 200-279.

WINTER, C.T. (1989). The role of acetate in denitrification and biological phosphate removal in modified Bardenpho systems. *Wat. Sci. Technol.*, 21: 375-385.

WPCF (WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION) (1983). *Nutrient Control.*, Manual of practice N° FD-7., WPCF, Washigton, D.C.

YALL, I., W.H. BOUGHTON, R.C. KNUDSEN, et N.A. SINCLAVI (1980). Biological uptake of phosphorus by activated sludge., *Appl. Microbiol.*, 20: 145-150.

YEOMAN, S., T. STEPHENSON, J.N. LESTER, et R. PERRY (1988). The removal of phosphorus durin wastewater treatment : a Review., *Environmental Pollution* ., 49: 183-233.

YOON, C.H., et M. SUZUKI (1990). Kinetics of biological phosphorus behavior in sequential batch reactor under anaerobic/aerobic conditions. *J. Chem. Eng. of Japan*., 23(8):297-302.

## ANNEXE 1

### MÉTHODES ANALYTIQUES

Dans cette annexe on décrit les méthodes analytiques utilisées dans les essais de laboratoire selon les procédures expérimentales du chapitre 4.

#### 1. MES, MVS, IVB

Les matières en suspension dans la liqueur mixte (MES), et les matières volatiles en suspension dans la liqueur mixte (MVS), sont déterminées respectivement par évaporation à 105 °C puis calcination à 550°C, du résidu de filtration sur filtre Wattman 934/AH, conformément à la procédure des méthodes standards 2540 D et 2540 E de APHA et al. (1992).

L'indice volumétrique de boues (IVB) est déterminé à partir d'un litre d'échantillon de liqueur mixte soutirée pendant la phase aérobie. Ces boues activées sont décantées dans un cône Imhof pendant 30 minutes. L'IVB est calculé à partir du rapport du volume de boues activées décantées par la quantité de MES. Cette méthode est conforme à celle de APHA et al. (1992): 2710 D.

#### 2. DCO, DBO<sub>5</sub>, COT

La demande chimique en oxygène (DCO) est déterminée en utilisant la méthode standard 5220 D de APHA et al. (1992). Ainsi, 2 ml d'échantillon sont ajoutés à un tube DCO de Hach, et l'oxydation est effectuée dans des conditions énergétiques (150 °C) et par voie chimique. Elle se fait sous l'action d'un oxydant puissant (bichromate de potassium) en milieu acide fort (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) et au reflux pendant deux heures. La mesure de la réduction du bichromate dans l'échantillon par absorbance donne la concentration de DCO.

Le carbone organique total (COT) est analysé dans des échantillons selon la méthode 5310 C de APHA et al. (1992). Un analyseur à carbone DORHAMANN DC-80 a été utilisé. Il permet

d'oxyder le carbone organique et minéral en  $\text{CO}_2$  en utilisant le persulfate en présence de l'ultraviolet. Le  $\text{CO}_2$  produit, qui est corrélé au COT, est analysé par photométrie infrarouge.

La méthode 5210 B de APHA et al. (1992) a été utilisée pour mesurer la demande biochimique en oxygène à 5 jours ( $\text{DBO}_5$ ). La  $\text{DBO}_5$  est analysée en mesurant les quantités d'oxygène dissous dans l'échantillon au moment de l'ensemencement et après incubation de 5 jours à 20 °C dans l'obscurité.

### 3. Oxygène dissous, pH, température, ORP

Ces analyses sont aussi effectuées en respectant les méthodes standards (APHA et al., 1992). Ainsi l'oxygène dissous est mesuré dans le réacteur ou dans les essais en batch en utilisant la méthode par l'électrode à membrane avec un oxymètre YSI modèle 59. Le pH est mesuré par potentiométrie à l'aide d'un pH-mètre de Hach muni d'une électrode à pH qui est préalablement calibrée avant chaque mesure avec des solutions étalons de pH 4 et 7. Et pour la mesure du potentiel d'oxydation-réduction (ORP) un appareil Hach, qui est muni d'une électrode de référence Ag/Ag Cl, est utilisé. La température est mesurée en utilisant un thermomètre digital Baxter pouvant couvrir une gamme de température de -50 °C à +150 °C.

### 4. Ammoniac, nitrates, TKN

L'ammoniac est analysé dans les échantillons, après distillation préalable, par titration en suivant la méthode standard 4500- $\text{NH}_3$  B et E de APHA et al. (1992). Un appareillage de distillation et titration de Büchi-Brinkmann est utilisée pour cette analyse.

L'azote total Kjeldhal (TKN) est déterminé dans les échantillons par digestion à l'acide puis distillation et titration selon APHA et al. (1992), méthode 4500- $\text{N}_{\text{org}}$ , en utilisant le même appareillage de Büchi-Brinkmann.

Les nitrates sont analysés selon la méthode de réduction au cadmium (4500-NO<sub>3</sub> E) de APHA et al. (1992). L'absorbance de l'échantillon après réaction est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre de Hach, DR/2000 (Hach, 1992).

#### 5. Orthophosphates, phosphore total, contenu spécifique en phosphore des boues

Les orthophosphates sont analysés directement dans les échantillons en utilisant la méthode d'acide ascorbique 4500-P E de APHA et al. (1992).

Le phosphore total est déterminé dans les surnageants de liqueur mixte après digestion au persulfate en milieu acide selon la méthode 4500-P B.5, par la mesure de l'absorbance en utilisant la méthode d'acide ascorbique (APHA et al., 1992).

Dans la liqueur mixte, on détermine le contenu spécifique en phosphore des boues (polyphosphates) à partir d'un échantillon pour lequel on détermine aussi la quantité en MVS. On digère l'échantillon de boues (25 ml de liqueur mixte) avec 5 g de persulfate de potassium et 5 ml d'acide sulfurique 30% dans l'autoclave sous une pression de 22 PSI et à 120 °C, pendant 2.5 heures. La digestion se fait en trois phases. En premier lieu la digestion se fait en utilisant 1 g de persulfate et 1 ml d'acide pendant une demi-heure. Puis pour les deux autres phases, qui durent une heure chacune, on utilise 2 g de persulfate et 2 ml d'acide. L'échantillon est ensuite filtré sur un filtre Wattman 934/AH puis l'absorbance est mesurée par le méthode d'acide ascorbique et avec un spectrophotomètre de Hach, DR/2000. Le contenu spécifique en phosphore des boues (exprimé en mg P/ mg MVS) est déterminé comme étant le rapport de la concentration en phosphore total mesurée dans les boues et de la concentration en MVS qu'une partie de ce même échantillon de boues présente.

#### 6. Métaux

Dans le surnageant filtré en utilisant un filtre Wattman 934/AH, les métaux sont analysés par spectrophotométrie à absorption atomique selon la méthode standard 3110 de APHA et al. (1992). Un spectrophotomètre AA de modèle Varian AA-1275 avec une flamme air acétylène

est utilisé pour ces analyses. Pour la distinction entre les cations  $\text{Cr}^{6+}$  et  $\text{Cr}^{3+}$ , les concentrations de ces cations métalliques sont déterminées par spectrophotométrie après colorimétrie en utilisant les techniques d'analyse décrites dans le manuel du spectrophotomètre DR/2000 de Hach (Hach, 1992). Le chrome hexavalent réagit avec un réactif contenant un tampon avec le diphenylcarbazine pour donner une coloration violette. Le chrome trivalent contenu dans l'échantillon est oxydé sous forme hexavalent par l'ion hypobromite en milieu alcalin. L'échantillon est ensuite acidifié et la concentration du chrome total est déterminée par la méthode de diphenylcarbazine. Le chrome trivalent est déterminé en soustrayant les résultats d'une analyse séparée du chrome hexavalent des résultats de l'analyse du chrome total pour le même échantillon.

Pour les boues, l'analyse des métaux est effectuée sur des échantillons de boues préalablement évaporées à l'étuve à 105 °C pendant 4 heures. Puis une digestion d'une quantité supérieure à 1 gramme est pratiquée selon la méthode standard 3030 I de APHA et al. (1992). Les échantillons ainsi digérés sont filtrés en utilisant un filtre Wattman 934/AH et ensuite analysés par spectrophotométrie à absorption atomique comme précédemment.

## 7. Acides gras volatils

Dans les surnageants de la liqueur mixte, préalablement filtrés sur un filtre MSI de porosité 0.45 microns, l'acétate, le propionate, le butyrate, et le valérate sont analysés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) en utilisant un chromatographe modèle Varian 3400. Une colonne capillaire de marque Stabilwax-DA de 30 mètres de long et de 0.53 mm de diamètre intérieur avec un film de phase stationnaire d'une épaisseur de 0.50 microns, qui peut détecter les acides gras de chaîne C2 à C7, est utilisée selon la procédure de Supelco inc. (1994).

Les conditions d'opération du CPG sont les suivantes: température d'injection 100 °C, température du détecteur à ionisation de flamme FID: 250 °C, et le gaz porteur est l'Hélium avec un débit de circulation de 125 mL/min et une vitesse linéaire de 30 cm/s. Les échantillons à analyser sont d'abord filtrés sur 0.45 microns puis acidifiés par l'acide phosphorique avant d'être injectés selon un volume de 1 µL.



Des standards de 200 mg/L de chaque acide gras volatil: acétate, propionate, butyrate, et valérate sont préparés respectivement à partir de l'acétate de sodium, du propionate de sodium, de l'acide n-butyrique, et de l'acide n-valérique. Les pics du signal obtenus avec ces standards sont utilisés par corrélation aux pics des signaux donnés par l'analyse des échantillons pour déterminer les concentrations en acides gras volatils que présentent les échantillons.

#### 8. Poly- $\beta$ -hydroxybutyrates

Les PHB sont analysés dans les boues bio-P en utilisant la méthode décrite par Gerhardt (1994). Pour cette analyse, un volume de cultures bactériennes contenant 10 à 20 mg en poids sec de boues est centrifugé pendant 15 minutes à 10000 g et à 4 °C à l'aide d'une centrifugeuse Biofuge 17 R de Baxter. Pour le même volume de boues, le poids sec est déterminé selon la méthode 2540B de APHA et al. (1992). Dans le tube contenant la culture bactérienne on y ajoute un volume d'hypochlorite de sodium égal au volume original des boues. Puis on dépose les tubes à l'incubateur à 37 °C pendant une heure en utilisant un incubateur Boekel modèle 133720. On centrifuge de nouveau l'échantillon et on lave le précipité avec de l'eau déionisée, puis avec 5 ml d'acétone, suivi de 5 ml d'éthanol. Après centrifugation de nouveau, le précipité est ensuite suspendu dans 3 ml de chloroforme chauffé dans un bain d'eau bouillante pendant 2 minutes. L'échantillon est refroidi puis centrifugé à 10000 g pendant 15 minutes à la température de la pièce. Le surnageant de la centrifugation est transvasé dans des flacons de 10 ml. On refait l'extraction une deuxième fois sur le précipité en utilisant du chloroforme à 100 °C pendant 2 minutes. Le surnageant recueilli est filtré sur un filtre résistant au solvants modèle Millex-HV<sub>13</sub> de Millipore sur seringue avec une porosité de 0.45 microns.

Des standards contenant 5 à 50  $\mu$ g d'acide 3-hydroxybutyrique sont préparés dans de l'éthanol. Les surnageants des échantillons filtrés et les standards sont transvasés dans des tubes en verre et ensuite ils sont chauffés dans un bain d'eau bouillante jusqu'à évaporation des solvants. On y ajoute 10 ml d'acide sulfurique grade réactif et on chauffe de nouveau les tubes dans un bain d'eau bouillante pendant 10 minutes. Les solutions sont refroidies et puis on mesure les absorbances à 235 nm. La quantité de PHB est déterminée à partir des absorbances lues à l'aide

de solutions standards de 3-HB. Un spectrophotomètre modèle CECIL C599 est utilisé et des dilutions des échantillons sont pratiquées s'il y a lieu.

## 9. Glycogène

Le glycogène qui est soluble dans l'eau et insoluble dans l'éthanol, est extrait des cellules bactériennes par la méthode décrite par Gerhardt (1994). Ainsi, l'échantillon de liqueur mixte prélevé dans des tubes de 30 ml est centrifugé à 5000 g pendant 15 min, et puis on y ajoute une solution de NaCl à raison de 85% de poids de cellules bactériennes par le volume de la solution, et on centrifuge de nouveau, puis on relave avec l'eau déionisée. Une masse de 500 mg de ces boues ainsi traitées est suspendue dans 0.6 ml de KOH 50% (poids/volume), et on chauffe le tube à 100°C pendant 3 heures dans un bain d'eau bouillante pour solubiliser le glycogène. Après refroidissement, on y ajoute 3 ml d'eau déionisée et 8 ml d'éthanol pour faire précipiter le glycogène. Après centrifugation, on lave le précipité avec 8 ml d'éthanol 60% (v/v d'eau), et on le passe à l'autoclave à 120 °C sous pression de 22 PSI, et on analyse le glucose dans l'échantillon avec la méthode anthrone décrite par Gerhardt (1994). Cette méthode consiste à préparer des solutions standards contenant 10 à 100 µg de glucose par ml. Ces échantillons sont analysés en prenant 0.6 ml de chaque échantillon qu'on met dans de l'eau déionisée dans des tubes en Pyrex. On y ajoute 5 ml de réactif anthrone glaciale et on chauffe les tubes dans un bain d'eau bouillante pendant exactement 10 minutes, puis on les refroidit dans un bain d'eau très froide. Le réactif anthrone réagit ainsi avec les monosaccharides déshydratés et les absorbances à 625 nm sont mesurées. Ce réactif est préparé avec 100 mg d'anthrone ajouté dans 2.5 ml d'éthanol et on complète à 50 ml avec l'acide sulfurique 75% v/v. Les absorbances des échantillons sont corrélées avec celles des standards. Pour la mesure des absorbances un spectrophotomètre modèle CECIL CE 599 est utilisé et des dilutions des échantillons sont pratiquées s'il y a lieu. Une centrifugeuse Biofuge 17R de Baxter, avec un autoclave modèle National 704-9000-D sont aussi utilisés dans ces expériences.

#### 10. Observations au microscope

Des échantillons de liqueur mixte sont prélevés lors des phases anaérobie et aérobie puis dilués avec de l'eau déionisée jusqu'à ce qu'il présentent environ 100 mg/l de MES, et puis homogénéisés vigoureusement pour être examinés au microscope contraste de phase afin d'observer la qualité du floc et la présence de protozoaires et des filamenteuses.

Pour d'autres échantillons, prélevés dans les mêmes conditions que précédemment, on utilise la technique de coloration décrite par Jenkins et al. (1986). On examine au microscope la présence ou l'absence des granules de PHB et de polyphosphates pour juger de l'activité des bactéries bio-P. Les colorants utilisés sont: le colorant Neisser pour les granules de polyphosphates et le noir de Soudan pour la coloration des PHB. Les observations des granules de polyphosphates sont faites avec un grossissement de 1000X sous immersion à l'huile et sans contraste de phase. Les volutins des polyphosphates donnent une couleur bleu-violet et foncée entachant toute la cellule bactérienne. Quand les cellules bactériennes contiennent des polyphosphates en quantité moindre, seulement la paroi de la cellule est fortement entachée par rapport au reste de la cellule bactérienne. Le microscope Olympus BH2 est utilisé pour ces observations.

## ANNEXE 2

### COMPORTEMENT DU pH DANS LE RBS AU COURS DES CYCLES D'INHIBITION PAR LES MÉTAUX

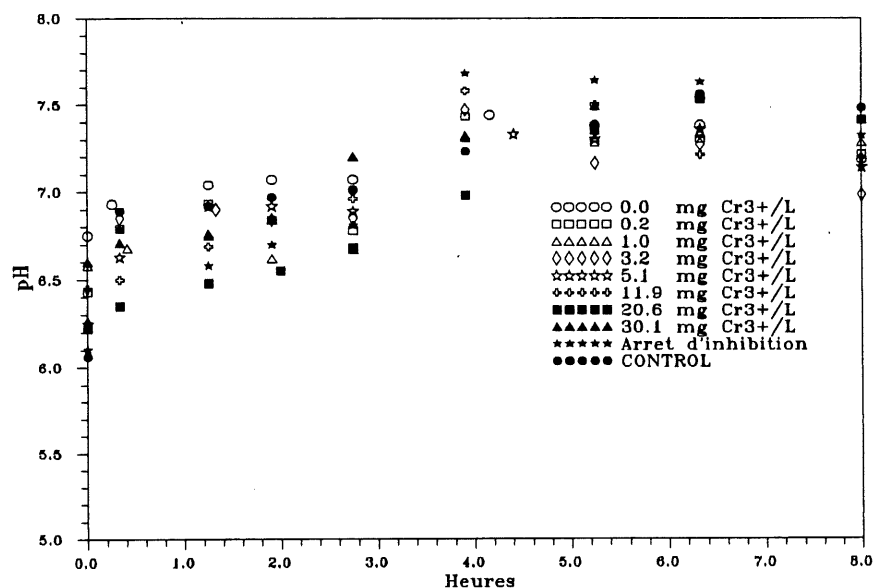


Figure A2.1. Évolution du pH dans le RBS avec inhibition par le chrome III.

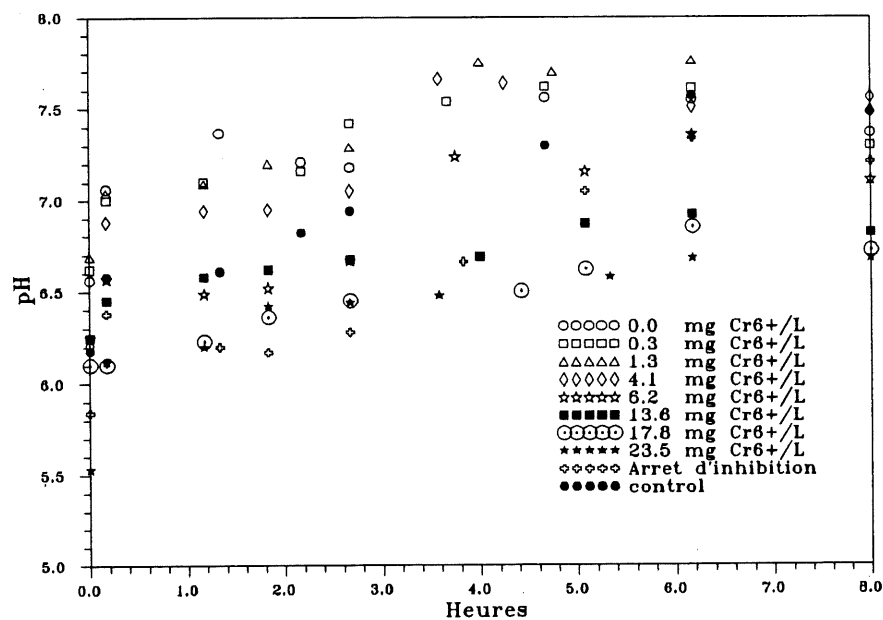


Figure A2.2. Évolution du pH dans le RBS avec inhibition par le chrome VI.

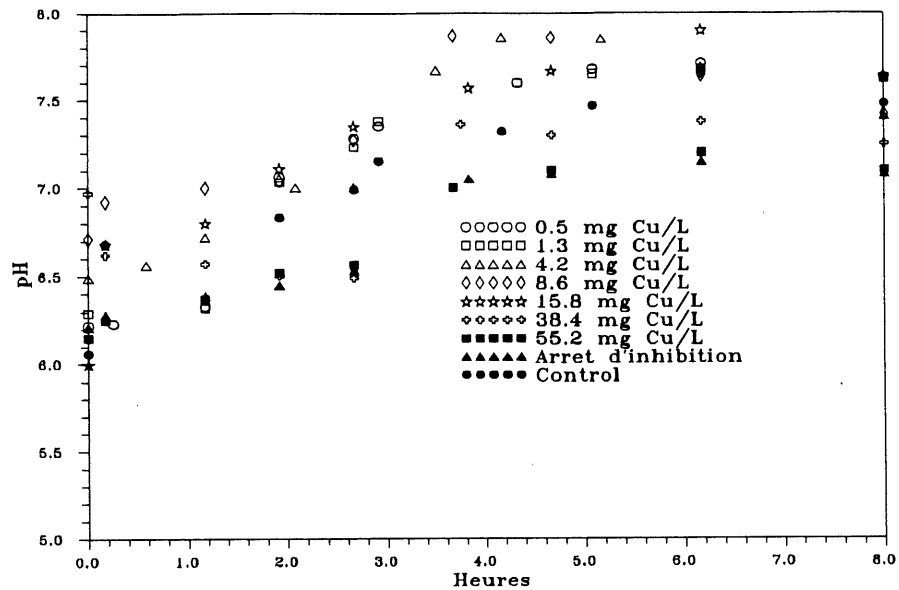


Figure A2.3. Évolution du pH dans le RBS avec inhibition par le cuivre.

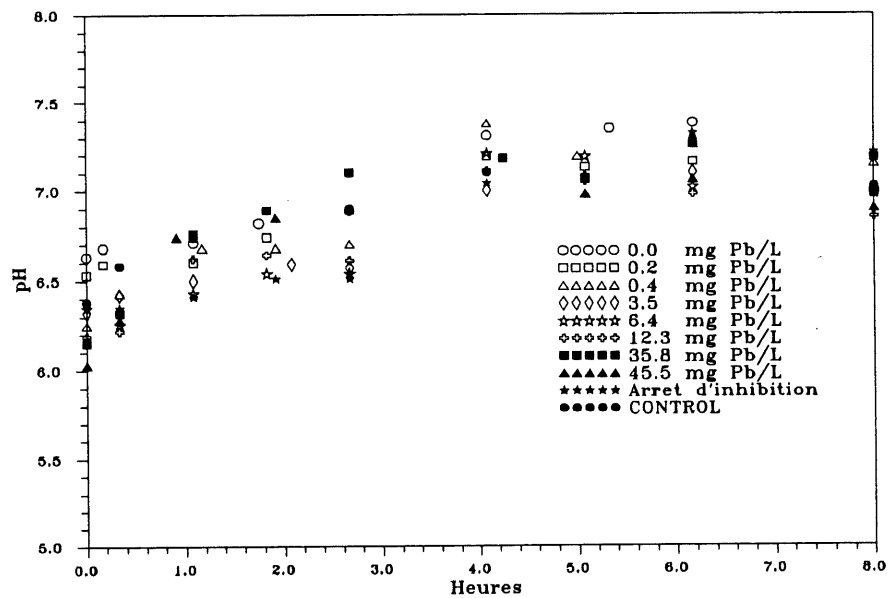


Figure A2.4. Évolution du pH dans le RBS avec inhibition par le plomb.

### ANNEXE 3

## COMPORTEMENT DU COT ET DE LA DCO DANS LE RBS AU COURS DES CYCLES D'INHIBITION PAR LES MÉTAUX

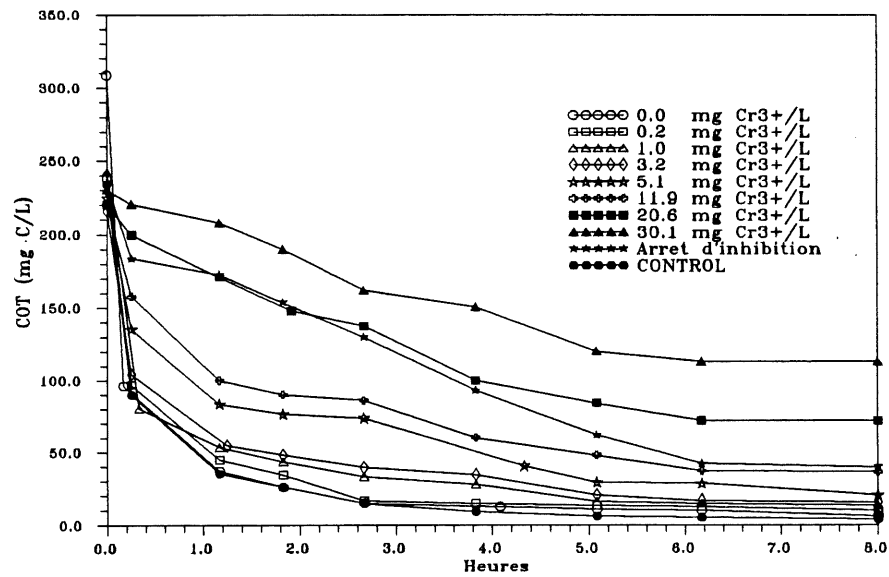


Figure A3.1. Évolution du COT dans le RBS avec inhibition par le chrome III.

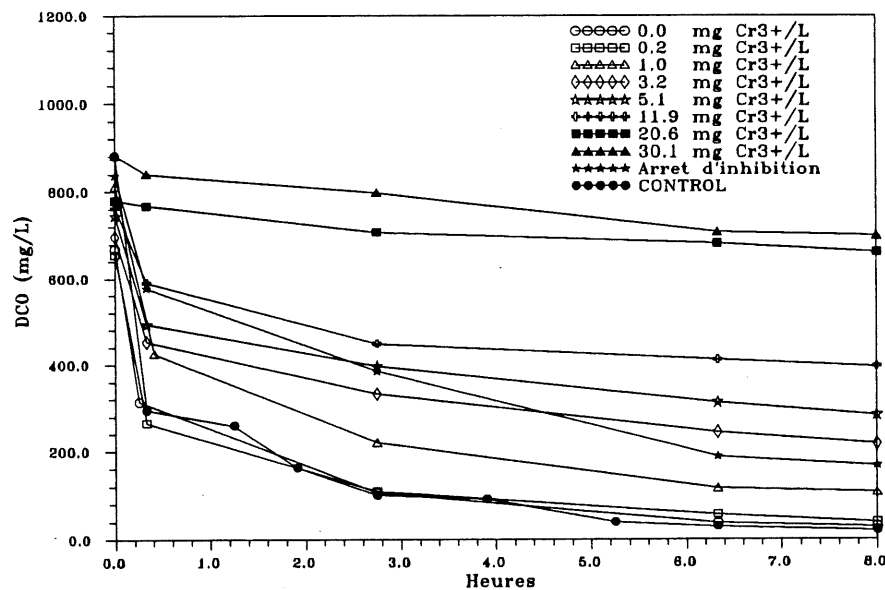


Figure A3.2. Évolution de la DCO dans le RBS avec inhibition par le chrome III.

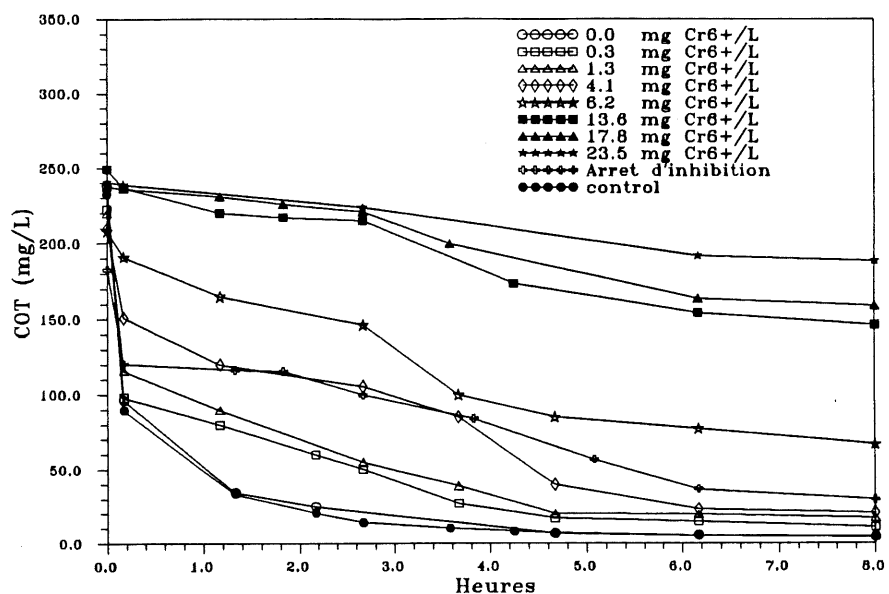


Figure A3.3. Évolution du COT dans le RBS avec inhibition par le chrome VI.

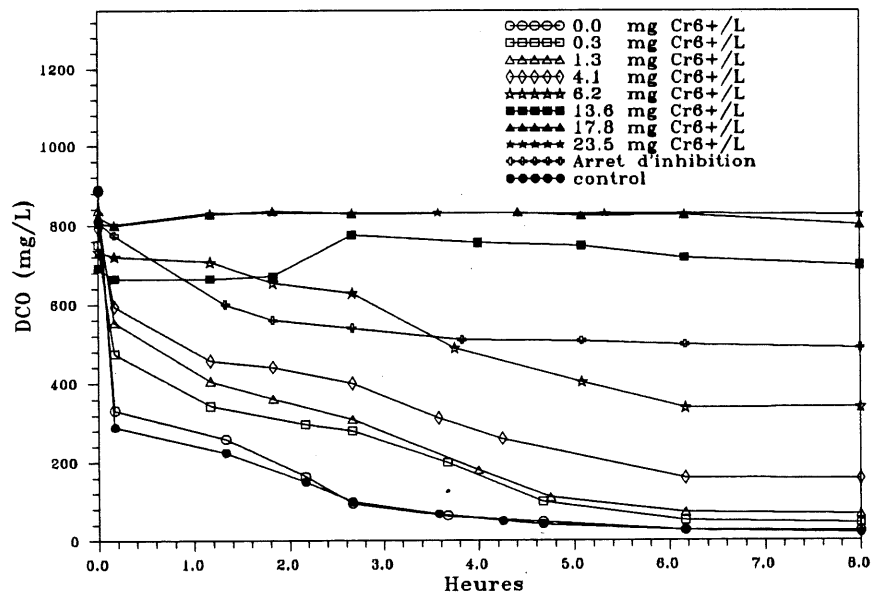


Figure A3.4. Évolution de la DCO dans le RBS avec inhibition par le chrome VI.

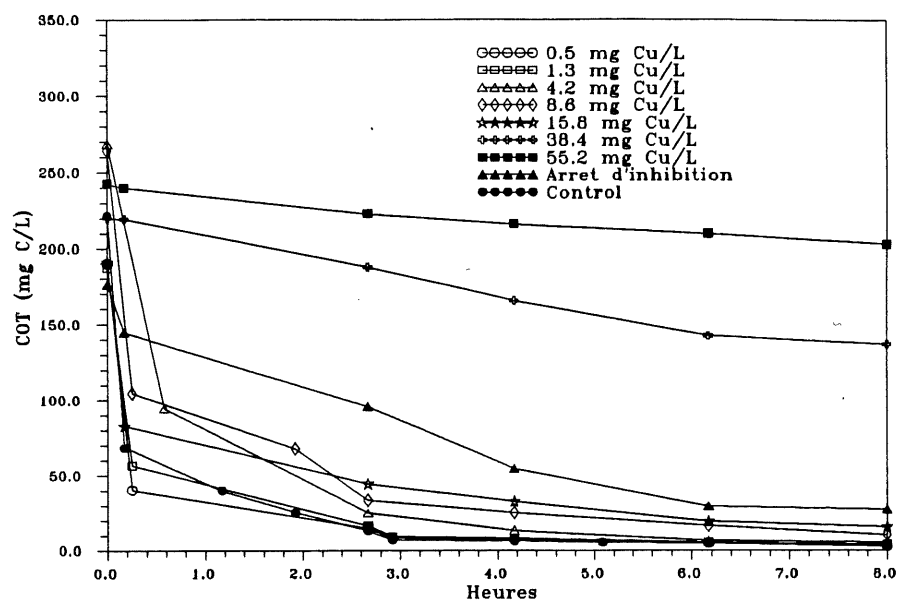


Figure A3.5. Évolution du COT dans le RBS avec inhibition par le cuivre.

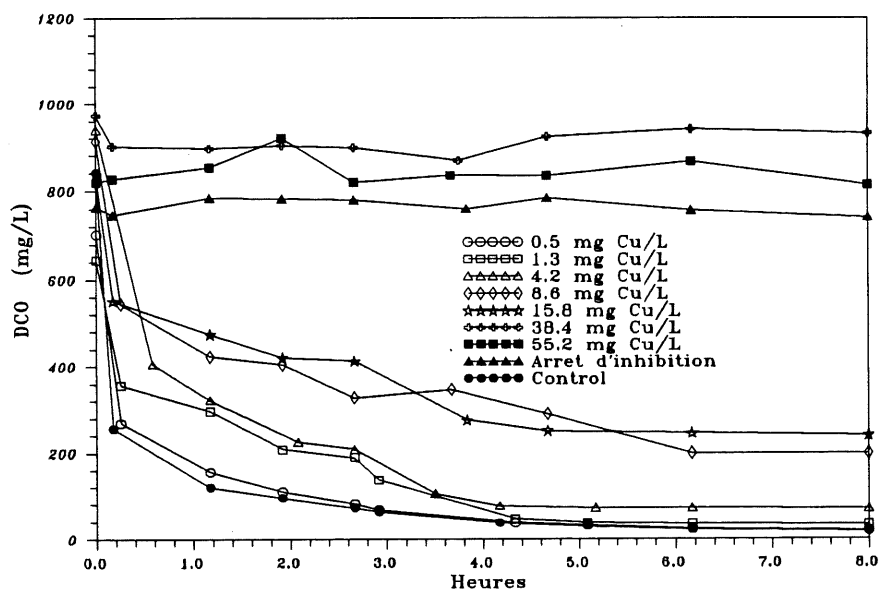


Figure A3.6. Évolution de la DCO dans le RBS avec inhibition par le cuivre.



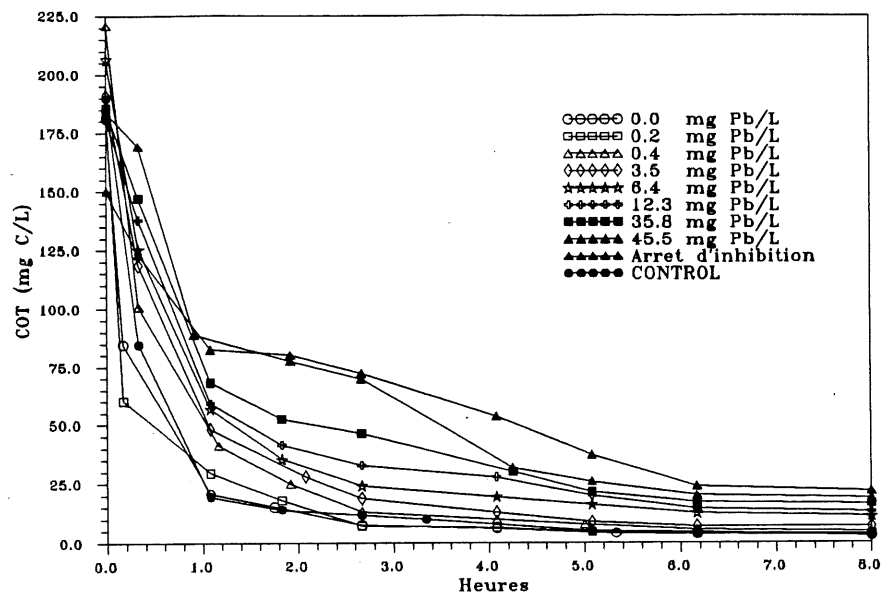


Figure A3.7. Évolution du COT dans le RBS avec inhibition par le plomb.

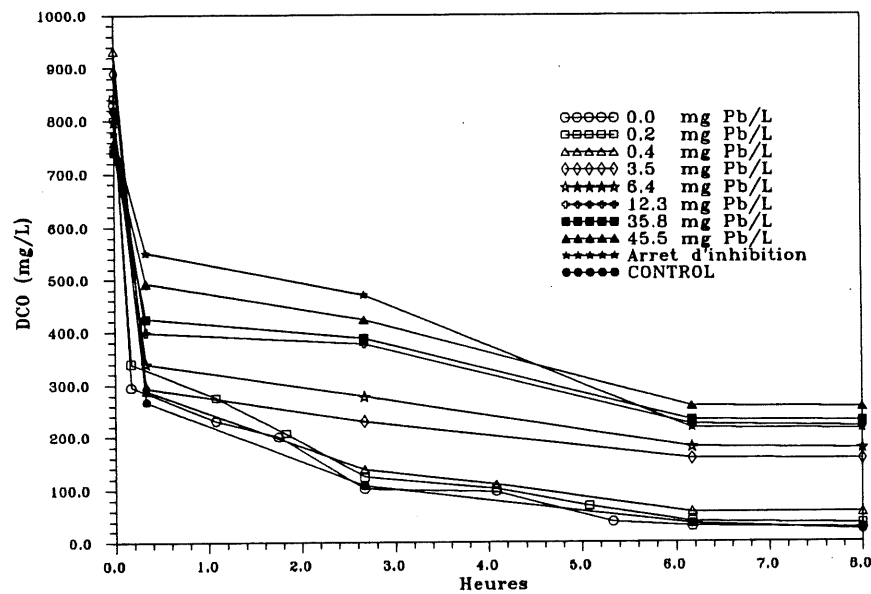


Figure A3.8. Évolution de la DCO dans le RBS avec inhibition par le plomb.

## ANNEXE 4

### COMPORTEMENT DU TKN DANS LE RBS AU COURS DES CYCLES D'INHIBITION PAR LES MÉTAUX

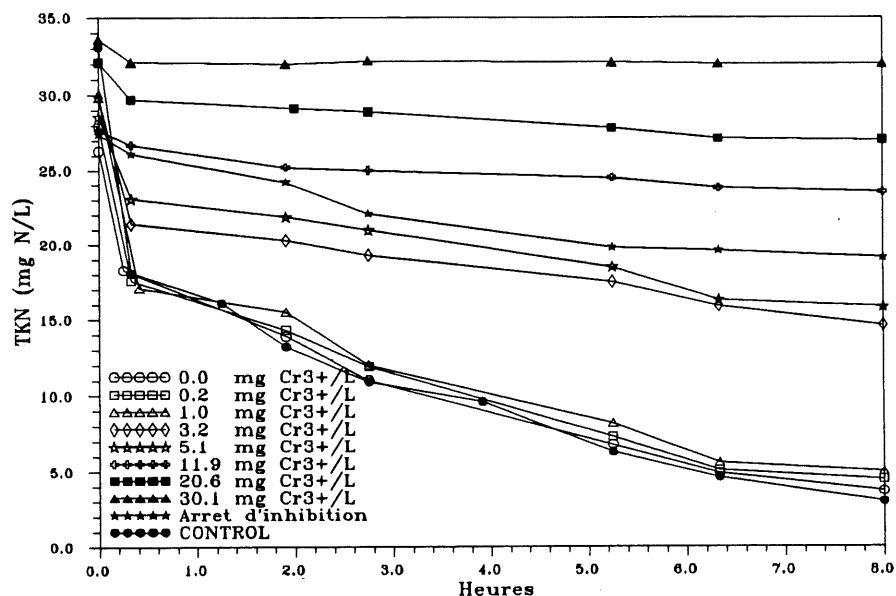


Figure A4.1. Évolution du TKN dans le RBS avec inhibition par le chrome III.

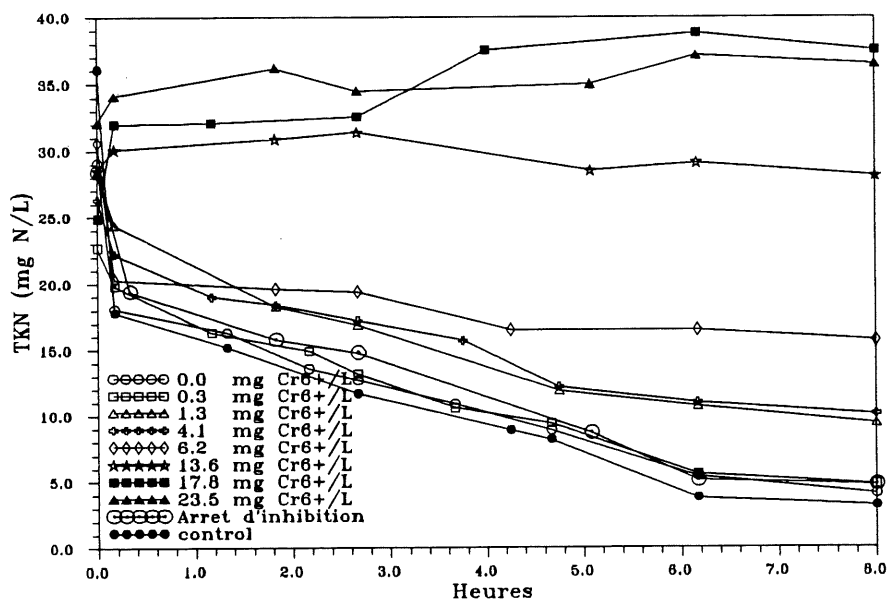


Figure A4.2. Évolution du TKN dans le RBS avec inhibition par le chrome VI.

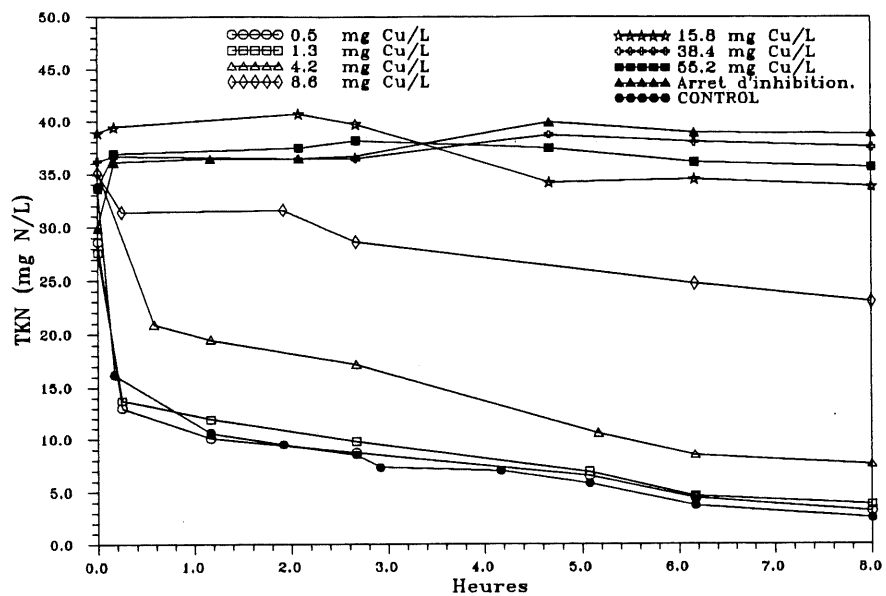


Figure A4.3. Évolution du TKN dans le RBS avec inhibition par le cuivre.

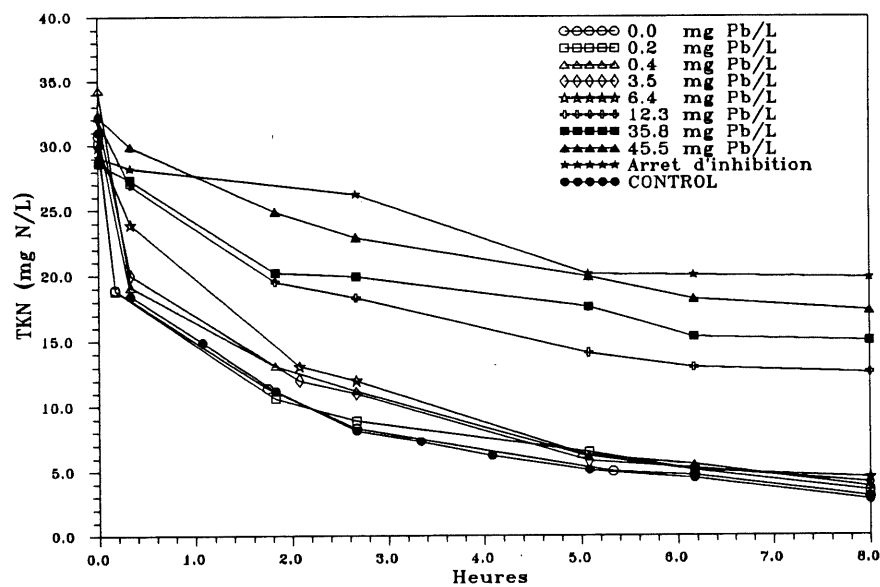


Figure A4.4. Évolution du TKN dans le RBS avec inhibition par le plomb.

## ANNEXE 5

### COMPORTEMENT DES ORTHOPHOSPHATES DANS LE RBS AU COURS DES CYCLES D'INHIBITION PAR LES MÉTAUX

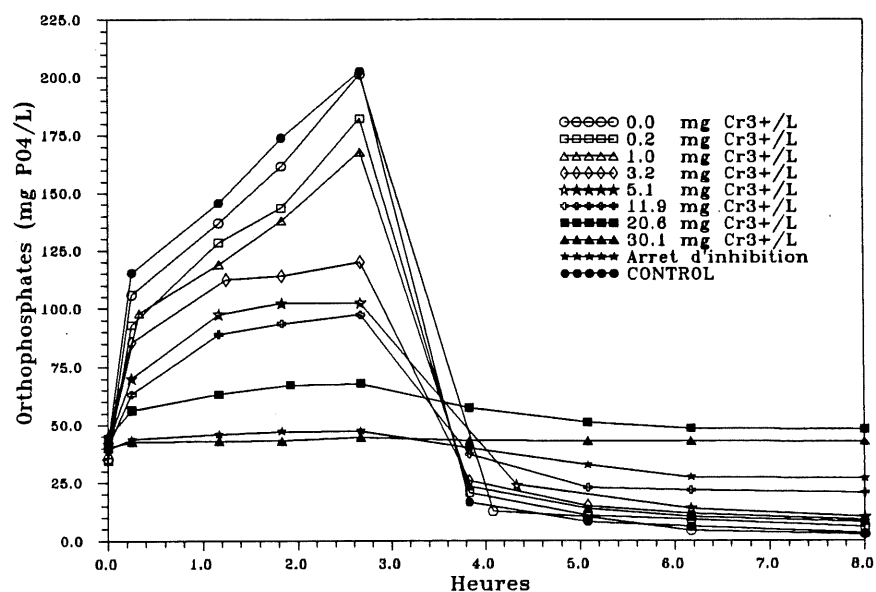


Figure A5.1. Évolution des orthophosphates dans le RBS avec inhibition par le chrome III.

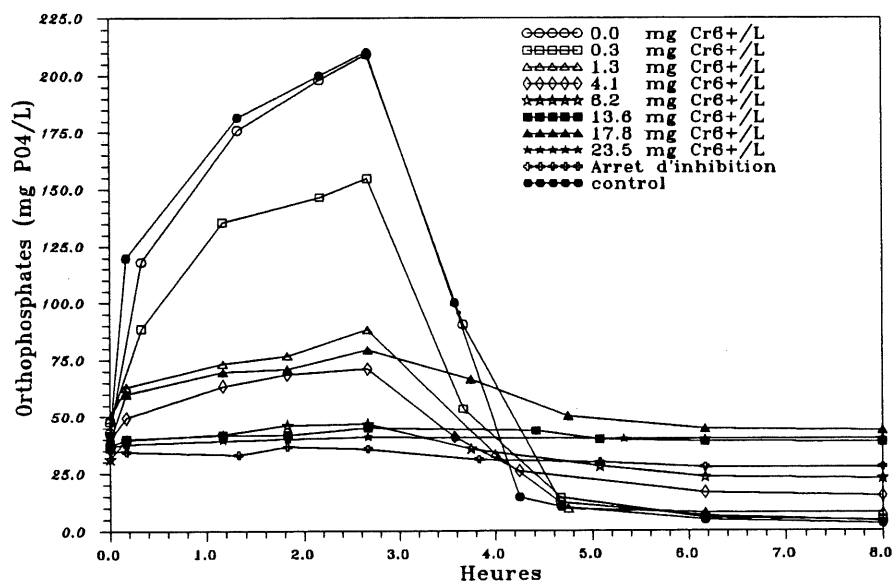


Figure A5.2. Évolution des orthophosphates dans le RBS avec inhibition par le chrome VI.

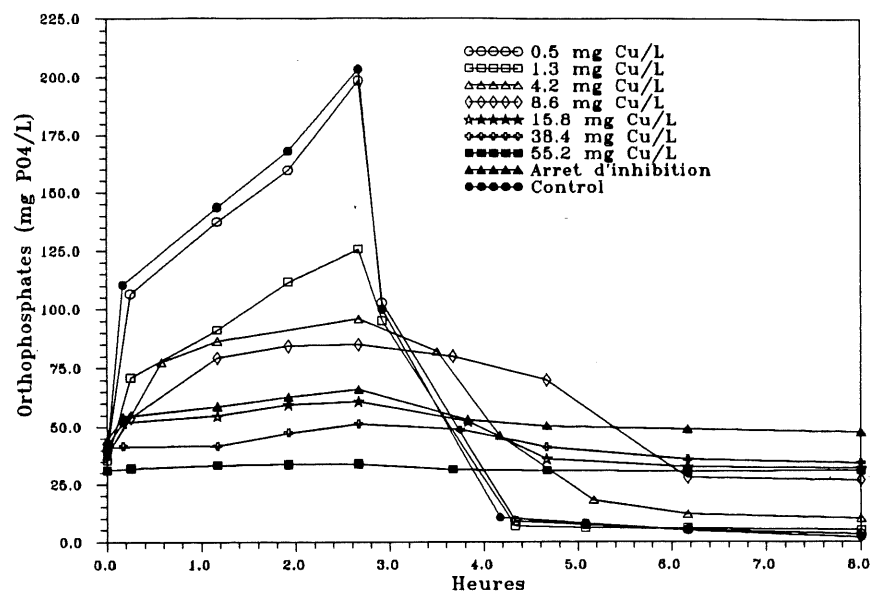


Figure A5.3. Évolution des orthophosphates dans le RBS avec inhibition par le cuivre.

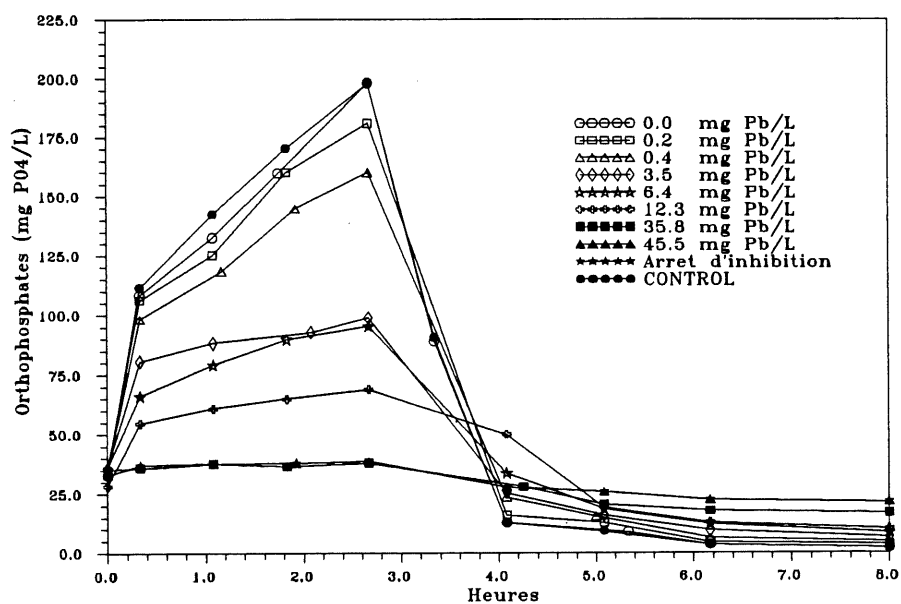


Figure A5.4. Évolution des orthophosphates dans le RBS avec inhibition par le plomb.

# **ANNEXE 6** **COMPORTEMENT DES MÉTAUX DANS LE RBS AU COURS DES CYCLES D'INHIBITION**

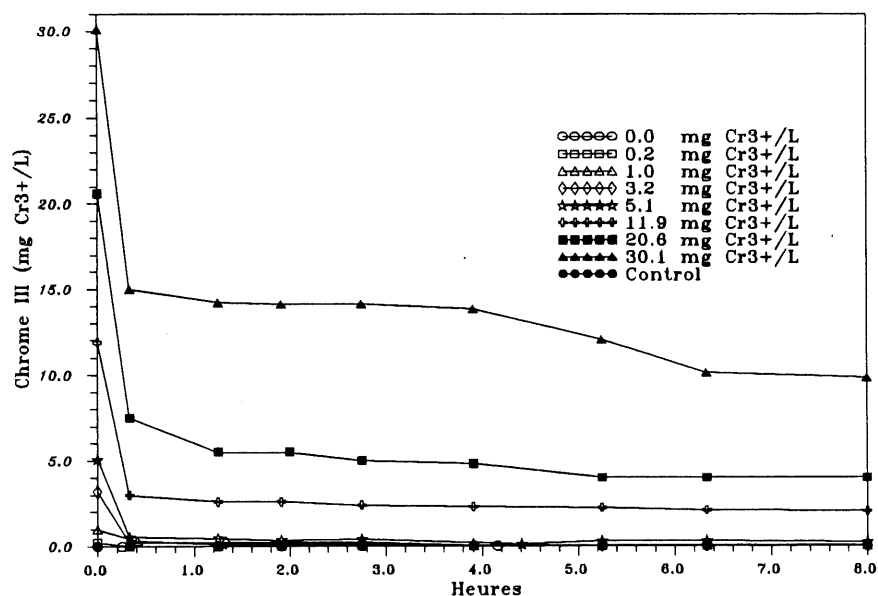


Figure A6.1. Évolution du chrome III dans le RBS pendant les cycles de traitement.

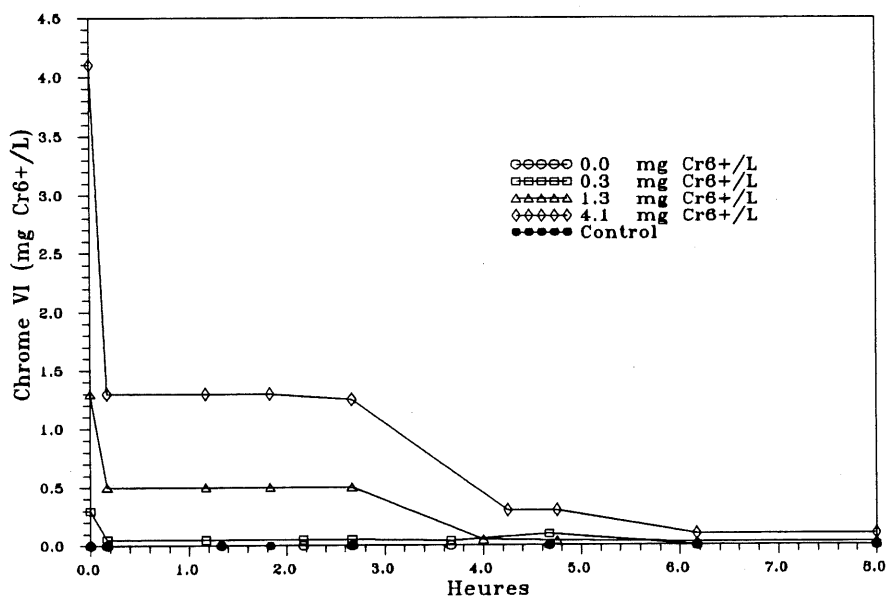


Figure A6.2. Évolution du chrome VI dans le RBS pendant les cycles de traitement.

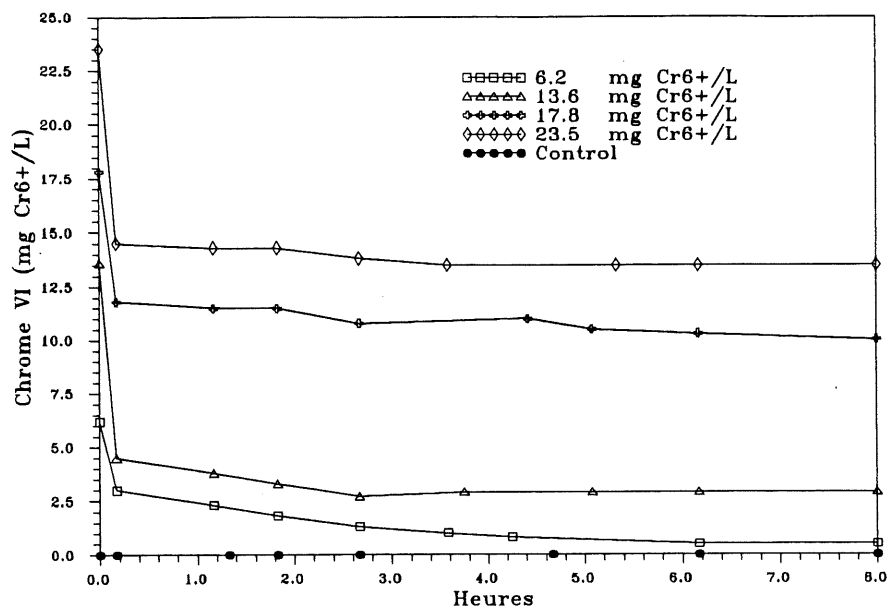


Figure A6.3. Évolution du chrome VI dans le RBS pendant les cycles de traitement.

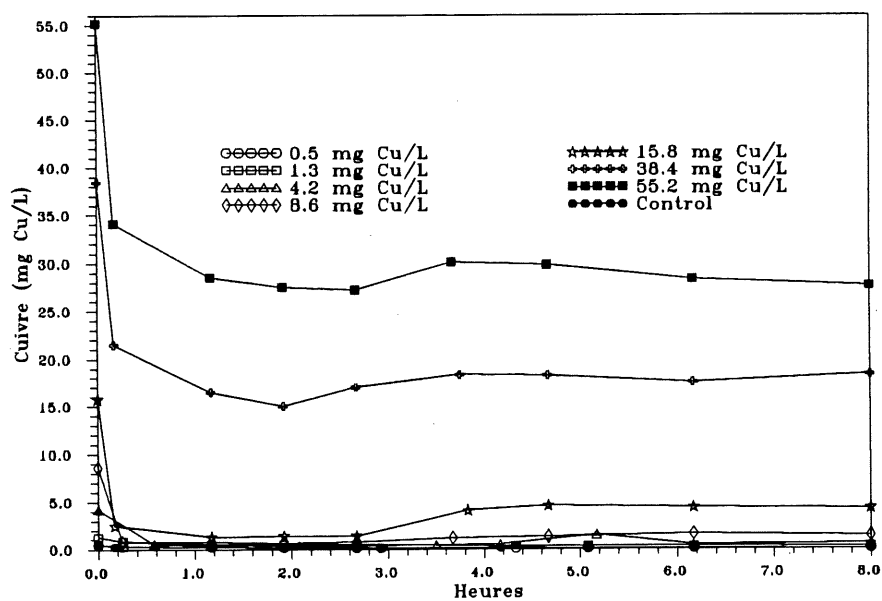


Figure A6.4. Évolution du cuivre dans le RBS pendant les cycles de traitement.

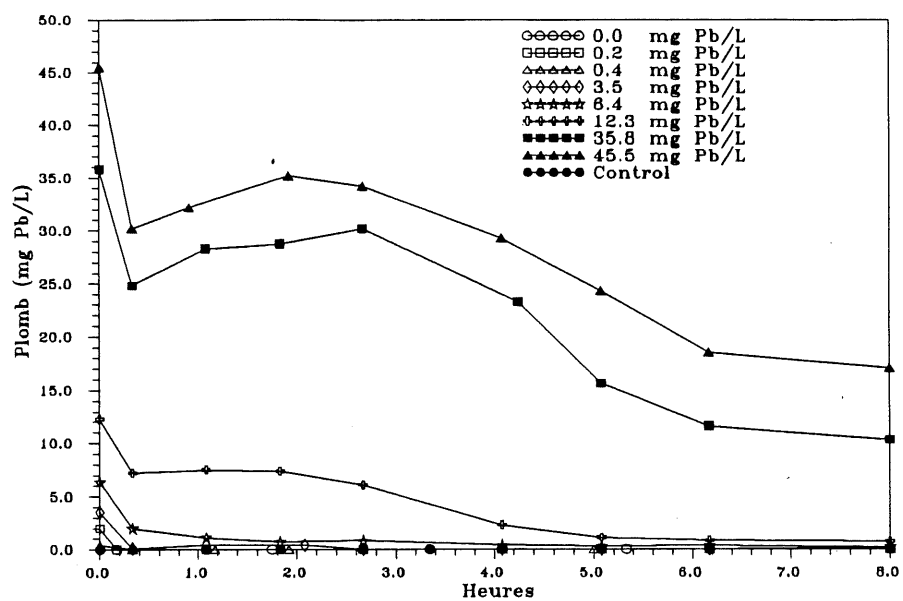


Figure A6.5. Évolution du plomb dans le RBS pendant les cycles de traitement.



**ANNEXE 7**  
**PHOTOS DU SYSTÈME PILOTE RBS**



Photo 1 : RBS en phase de réaction.

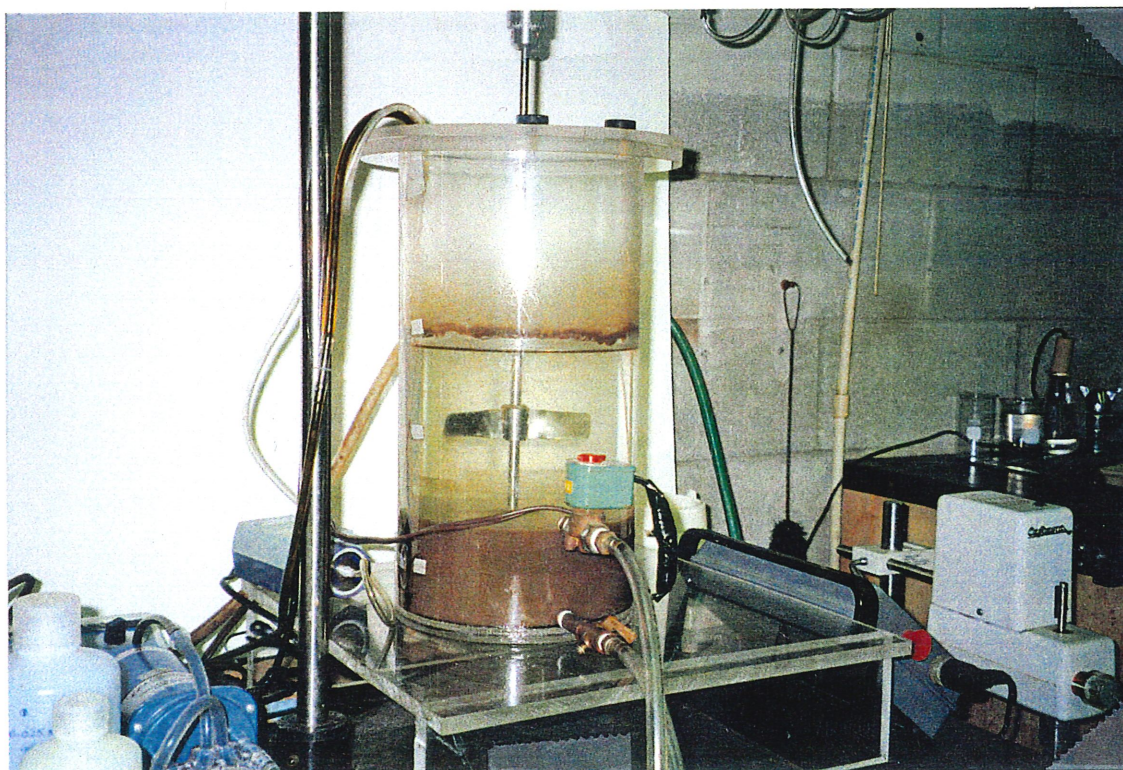


Photo 2 : RBS en phase de décantation

## ANNEXE 8

### CONCENTRATIONS EN AGV ET LES ÉQUIVALENCES EN DCO

Après avoir déterminé les concentrations relatives à chaque AGV (acétate, propionate, butyrate et valérate) par chromatographie en phase gazeuse, on transforme chacune de ces concentrations en équivalent en DCO pour pouvoir écrire une concentration globale (en mg DCO/L) de tous les AGV détectés par la chromatographie.

Les calculs utilisés pour faire ces transformations en DCO équivalentes sont donnés par le tableau suivant:

AGV (forme acide)	Formule chimique	Poids molaire (mg / mmole)	DCO équivalente (mg AGV/100 mg DCO)
acétate	CH <sub>3</sub> COOH	60.05	93.8*
propionate	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> COOH	74.05	66.1
butyrate	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH	88.11	55.1
valérate	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH	102.13	49.1

#### (\*) Exemple de calcul

Calcul de la quantité de mg d'AGV par 100 mg de DCO pour l'acétate,

( acide acétique CH<sub>3</sub> COOH) :

Pour une oxydation complète de cet AGV, on a la réaction chimique suivante :

	CH <sub>3</sub> COOH	+	2 O <sub>2</sub>	→	2 CO <sub>2</sub>	+	2 H <sub>2</sub> O
Nombre d'atomes d'O <sub>2</sub>	2		4		4		2
Poids molaire	60.05 g		64 g				
Pour 100 mg de DCO	<u>93.83</u> mg		100 mg				

$$93.83 \text{ mg AGV} / 100 \text{ mg DCO} = (60.05 \times 100) / 64$$